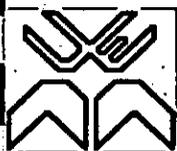


B10-56



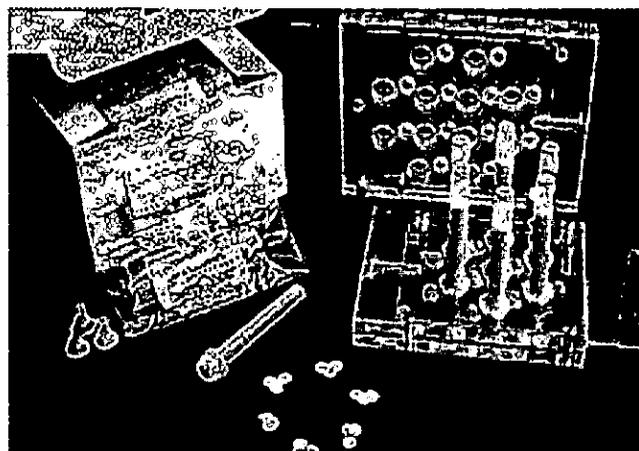
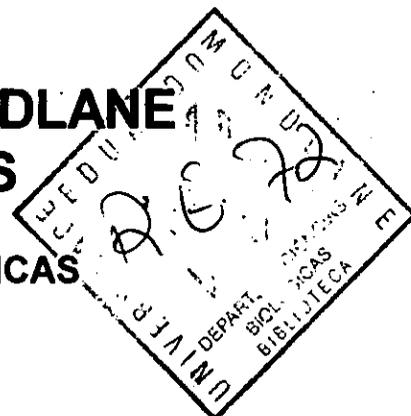
**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS**

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRABALHO DE LICENCIATURA

TEMA:

Avaliação do padrão de Sensibilidade do *Staphylococcus aureus* aos antibióticos



AUTOR: Arlindo Adolfo Chaúque



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

A.E. 72

Trabalho de Licenciatura

Tema:

**Avaliação do Padrão de Sensibilidade do *Staphylococcus aureus*
aos antibióticos**

AUTOR: Arlindo Adolfo Cháuque

Supervisores: Dr. José Monjane
Dr.^a Cristina Beatriz

Maputo, Junho de 2001



DEDICATÓRIA

À memória da minha mãe
Ao Manuel Chaúque

AGRADECIMENTOS

Para a realização deste trabalho contei com a colaboração e apoio de professores, técnicos do laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina, do pessoal do Departamento das Cirurgias do Hospital Central do Maputo, de amigos, colegas e e assim sendo, desejo expressar a minha gratidão a toda a equipe que noite e dia comigo trabalhou para que a realização deste trabalho fosse possível .

Em especial devo agradecer aos professores José Monjane, Cristina Beatriz e Elena Folgosa, pela excelência e paciência no acompanhamento do trabalho.

Ao dr. Almeida Guissamulo pelo auxílio prestado na área de estatística.

Ainda devo expressar sinceros agradecimentos ao senhor Samuel Simbine pelo esforço e boa vontade em trabalhar comigo no processamento das amostras, ao Salomão Eliote, Félix Oliveira e Neves pela gentil colaboração na pesquisa da informação literária, à dr^a. Josefa, dr^a. Delfina, aos amigos e colegas Eurico, Carlos Luciano, Augusta Eduarda, Janete, e outros que directa ou indirectamente participaram neste trabalho .

Não me esqueço da Cooperação Universitária Itália-Moçambique que financiou a compra de reagentes e discos de antibióticos.

Também agradeço a todos aqueles que me desejaram bons sucessos neste trabalho ou que pelo menos manifestaram o interesse em apoiar-me e que não foram aqui mencionados.

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Arlindo Adolfo Chaúque, declaro por minha honra que os dados aqui apresentados são verdadeiros

Arlindo Adolfo Chaúque

RESUMO

Os estafilococos são bactérias esféricas, Gram positivas, geralmente com disposição em cachos irregulares, semelhantes a cachos de uvas. Crescem rapidamente em vários tipos de meios de cultura, são metabolicamente activos, fermentando carboidratos e produzindo pigmentos que variam de branco a amarelo forte. O *Staphylococcus aureus* é um dos agentes comumente implicado em infecções adquiridas nos hospitais e na comunidade, e adquire rapidamente resistência a muitos dos antibióticos disponíveis para o tratamento das infecções por ele causadas.

Este estudo tem em vista avaliar o padrão de sensibilidade deste microrganismo aos antibióticos e ainda avaliar a frequência do mesmo no Hospital Central do Maputo, dada a falta de informação sobre esta matéria.

As amostras foram colhidas nos serviços de Cirurgia do Hospital Central do Maputo, concretamente na Pequena Cirurgia e na Pediatria do Hospital mencionado. Essas amostras consistiam basicamente de pús de abscessos, fleimões e piomiosites, aspirados com auxílio de seringas que posteriormente foram enviadas ao laboratório onde as amostras foram submetidas ao exame de Gram e às provas bioquímicas.

A maioria dos casos de infecções por *S. aureus* foi registada em crianças com idade compreendida entre 0 e 5 anos.

Os antibióticos mais utilizados devido à sua venda não licenciada e devidamente controlada, tiveram uma actividade muito baixa sobre as estirpes de *S. aureus*, enquanto que os de difícil acesso foram muito activos contra estes microrganismos.

O teste Chi quadrado mostrou que os resultados do antibiograma são significativos para todos os antibióticos seleccionados, com $p < 0.05$, excepto os da tetraciclina que não são significativos ($X^2 = 1.3$ e $p = 0.52205$).

ÍNDICE	Pag
1-INTRODUÇÃO.....	1
2-OBJECTIVOS.....	6
3-MATERIAIS E MÉTODOS.....	7
3.1- MATERIAL USADO.....	7
3.2-LOCAL E DURAÇÃO DO ESTUDO.....	8
3.3-POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	9
3.4-CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	9
3.5-METODOLOGIA DE TRABALHO.....	9
3.6-DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS.....	12
4-ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
5-RESULTADOS.....	18
6-DISCUSSÃO.....	26
7-CONCLUSÕES.....	29
8-RECOMENDAÇÕES.....	30
9-BIBLIOGRAFIA.....	31
10-ANEXOS.....	I,II,III,IV,V,VI,VII e VIII

1- INTRODUÇÃO

As bactérias são os microrganismos que maiores problemas de resistência aos fármacos têm colocado à humanidade nos últimos anos. A maior parte das bactérias que causam infecções nosocomiais (intra-hospitalares), apresentam resistência a pelo menos um dos antibióticos comumente usados para tratar essas infecções. Em alguns casos, esses microrganismos resistentes a todos os antibióticos exigem um tratamento com fármacos experimentais e potencialmente tóxicos. (Centers for Diseases Control and Prevention, 1999).

A utilização indiscriminada dos antibióticos pode reduzir a sua eficácia, não apenas no paciente individualmente, mas também na população em geral. A crescente emergência de resistência à antibióticos, devido em grande parte a utilização não racional dos mesmos, contribui substancialmente para o aumento da incidência de microrganismos com baixa sensibilidade à antibióticos, o que constitui um grande obstáculo para uma terapia com sucesso (William et al., 1999)

Segundo William et al. (1998), em 1944 foram descritos estafilococos produtores de penicilinas, ou seja, estafilococos capazes de produzir uma enzima que pode degradar as penicilinas e como tal, apresentam resistência às mesmas. A frequência destes microrganismos resistentes em amostras hospitalares, aumentou muito rapidamente, cerca de 1% em 1944 para 60% em 1946. A introdução de novos agentes antimicrobianos resultou no aparecimento de microrganismos multiresistentes, especialmente em ambientes hospitalares, sendo a espécie *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) um desses microrganismos. As infecções estafilocócicas tomam novas e dramáticas proporções quando estão envolvidas estirpes de *S. aureus* com padrão de resistência múltipla aos antibióticos de escolha disponíveis (Ferreira e Ávila, 1996).

Os estafilococos são bactérias esféricas, Gram positivas, geralmente com disposição em cachos irregulares, semelhantes a cachos de uvas. Crescem rapidamente em vários tipos de meios de cultura, são metabolicamente activos, fermentando carboidratos e produzindo pigmentos que variam de branco a amarelo forte. Alguns são membros da "flora" normal da pele e das mucosas dos seres humanos, enquanto outros provocam supurações, formação de abscessos, várias infecções piogénicas e até mesmo septicémia fatal (Aleman et al.,1989, Jawetz et al.,1991, Gilligan et al.,1992 e Ferreira e Ávila,1996).

S. aureus é um dos agentes comumente implicado em infecções adquiridas nos hospitais e na comunidade, a nível mundial (William et al., 1998). As infecções da pele são as formas mais comuns de infecções estafilocócicas humanas e nelas incluem-se os furúnculos, carbúnculos, impetigo e infecções de feridas pós operatórias. O *S. aureus* também é responsável por uma desordem comum adquirida na comunidade que é a intoxicação alimentar. Esta é causada por uma enterotoxina termo-estável produzida por *S. aureus*, quando este cresce em alimentos protéicos que contêm carboidratos (Hoeprich, 1982, Lennette et al., 1985, Alcamo, 1991 e Murray et al., 1995). A meningite, pneumonia e osteomielite, são os problemas mais sérios que se apresentam, tanto como infecções adquiridas na comunidade assim como no hospital (Murray et al.,1995).

Os estafilococos situam-se entre os microrganismos não esporulados mais resistentes. Alguns suportam uma temperatura de 60°C durante 30 minutos e o contacto com a solução de fenol a 1% durante 15 minutos. Permanecem viáveis sob refrigeração e em estado dissecado durante vários meses. A maioria das amostras de *S. aureus* cresce na presença de altas concentrações de NaCl (10-15%) (Pelczar et al., 1981, Atlas,1984 e Ketchum,1988). A resistência aos agentes físicos contribui para que estes microrganismos se tornem patógenos nosocomiais muito frequentes, dada a sua distribuição nos equipamentos contaminados, poeiras, pessoas infectadas ou colonizadas, dispositivos e superfícies contaminadas por fluidos contendo *S. aureus* (William et al., 1998).

Existem numerosos mecanismos pelos quais os microrganismos exibem resistência a fármacos de entre os quais se destacam os seguintes:

- (1) Produção de enzimas que destroem o fármaco activo.
- (2) Modificação da sua permeabilidade ao fármaco.
- (3) Alteração do alvo estrutural para o fármaco.

No entanto, os estafilococos permanecem sensíveis à vancomicina apesar da tendência de desenvolver resistência aos antibióticos (Jawetz et al., 2000 e Murray et al., 2000).

Um microrganismo é susceptível a um determinado antibiótico quando as concentrações do antibiótico nos tecidos são suficientes para destruir o microrganismo sem provocar efeitos tóxicos no doente. Um microrganismo torna-se resistente quando as mesmas concentrações do antibiótico já não são suficientes para destruí-lo (Vio, 1984).

Muitos agentes antimicrobianos têm efeito "*in vitro*" contra os estafilococos, contudo é difícil erradicar estafilococos patogénicos de pessoas infectadas porque os microrganismos muito rapidamente desenvolvem resistência contra muitos antimicrobianos, e os fármacos não conseguem actuar na porção necrótica central da lesão supurativa. Também é muito difícil erradicar o estado portador de *S. aureus* (Jawetz et al., 1991).

As infecções causadas por *S. aureus*, tanto hospitalares como na comunidade, apresentam morbidade e mortalidade elevadas. O aumento crescente da frequência de *S. aureus* resistentes à oxacilina (ORSA) e a possibilidade do aparecimento de estirpes resistentes à vancomicina tornam importante o desenvolvimento de novas drogas com actividade anti-estafilocócica. A ocorrência de casos na comunidade também tem vindo a tornar-se um problema, principalmente em utilizadores de drogas intravenosas. As estirpes de ORSA são, geralmente, resistentes a inúmeros antimicrobianos, incluindo todos os outros β -lactâmicos, os macrolídeos, as

lincosaminas, os aminoglicosídeos, o cloranfenicol e a tetraciclina. A vancomicina é o antibiótico de escolha para o tratamento de infecções causadas por ORSA (Farias et al., 1997).

Segundo Duguid et al. (1975) e MISAU (1983) as estirpes de *S. aureus* de origem não hospitalar eram sensíveis à maior parte dos antibióticos usados na terapêutica, como por exemplo a benzilpenicilina, meticilina, estreptomicina, cloranfenicol e eritromicina. As estirpes "multiresistentes" são, em geral, sensíveis às penicilinas antipenicilinas tais como a cloxacina (0.25µg/ml) e a meticilina (2µg/ml), assim como às cefalosporinas [cefaloridina (5µg/ml)], fucidina (0.06 µg/ml), vancomicina (1µg/ml), cotrimoxazol. Contudo, uma pequena fracção destas estirpes é "metecilino-resistente", podendo proliferar na presença de baixas concentrações terapêuticas de meticilina e cloxacilina, assim como de outras penicilinas. A resistência à meticilina aumentou substancialmente provavelmente como resultado do uso exagerado de cefalosporinas (Duguid et al., 1975 e Burnett et al., 1978).

Tendo em conta o rápido desenvolvimento de resistência medicamentosa entre os estafilococos, por vezes os hospitais limitam o uso de fármacos antiestafilacócicos ao tratamento de pacientes em estado grave. Essa restrição poderia prolongar o período útil do novo fármaco. A vancomicina ainda é o fármaco mais eficaz usado contra o estafilococos (Farias et al., 1997).

As infecções por *S. aureus* assumem um importante papel no quotidiano de uma instituição de saúde, reflectindo a efectividade dos seus programas de controle de infecções. Portanto, é importante realçar a necessidade de combinar estratégias de controle de infecções hospitalares e o uso racional de antimicrobianos para o combate efectivo de infecções estafilocócicas (Calda et al., 1999).

A crescente incidência do isolamento de *S. aureus* resistentes à oxacilina, a dificuldade e o alto custo de tratamento dos pacientes com essas infecções,

associadas à elevada taxa de morbilidade e mortalidade fazem com que seja imperioso o estudo da sensibilidade de *S. aureus* a diferentes antibióticos, por forma a auxiliar a introdução de programas de monitorização da sensibilidade e promoção do uso racional dos antimicrobianos (Calda et al., 1999) Em Moçambique, não se conhece na actualidade o padrão de sensibilidade de *S. aureus* aos antibióticos, nem a prevalência das infecções estafilocócicas nos hospitais, daí a necessidade do presente estudo.

2- OBJECTIVOS.

- Avaliar o padrão de sensibilidade "in vitro" do *S. aureus* a diferentes tipos de antibióticos.
- Estimar a frequência de infecções estafilocócicas em doentes internados nos Serviços de Cirurgia Pediátrica do Hospital Central do Maputo.
- Estimar a frequência de infecções estafilocócicas em doentes ambulatoriais atendidos nos Serviços de Urgência do Hospital Central do Maputo.

3- MATERIAL E MÉTODOS.

3.1- MATERIAL UTILIZADO.

- Seringas graduadas de 10ml.
- Agulhas hipodérmicas.
- Ansas de platina.
- Tubos de ensaio.
- Suportes de tubos de ensaio.
- Placas de Petri.
- Pipetas de 1,2 e 10 ml.
- Lâminas microscópicas.
- Microscópio óptico.
- Luvas.
- Bico de Bunsen.
- Incubadora bacteriológica ajustada a 37°C.
- Geleira.
- Kit de Gram.
- Tubos de cultura
- Plasma humano.
- Álcool etílico a 70%.
- Formaldeído a 10%.
- Detergente.
- Tintura de iodo a 2%
- Meio Mueller-Hinton
- Meio Agar sangue.
- Meio Agar Chocolate
- Meio Manitol Salt Agar
- Staph: Latex Test
- Papel de filtro.

- Palitos de madeira
- Cristal violeta.
- Peróxido de hidrogénio.
- Água destilada.
- Soro fisiológico.
- Caldo nutritivo.
- Zaragatoas
- Discos de antibióticos (ver tabela 1)

Tabela 1. Antibióticos utilizados

Item	Antibiótico	Concentrações	Unidade (Kit)	Quantidade
1	Ampicilina	10 μ g	250	1
2	Cefalotina	30g μ g	250	1
3	Cefuroxima	30 μ g	250	1
4	Ciprofloxacina	5 μ g	250	1
5	Cloranfenicol	30 μ g	250	1
6	Eritromicina	10 μ g	250	1
7	Gentamicina	10mcg	250	1
8	Oxacilina	1 μ g	250	1
9	Meticilina	5 μ g	250	1
10	Penicilina G	10 Units	250	1
11	Tetraciclina	10 μ g	250	1

3.2- LOCAL E DURAÇÃO DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina e nos Serviços de Urgência de Cirurgia (SUR) e Serviços de Cirurgia Pediátrica do Hospital Central do Maputo (HCM), no período compreendido entre Março e Maio de 2001.

3.3- POPULAÇÃO DO ESTUDO

A população do estudo foi de 170 indivíduos de ambos os sexos, pertencentes a diferentes faixas etárias.

3.4- CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos neste estudo indivíduos de ambos os sexos, crianças e adultos que se apresentaram nos Serviços de Urgência e Reanimação (SUR) do Hospital Central de Maputo e crianças internadas nos Serviços de Cirurgia Pediátrica com infecções supurativas do tipo abscessos não fistulizados, piomiosites e fleimões de Março a Maio de 2001.

Foi elaborada uma ficha (vide anexo II) para cada doente, a qual foi preenchida com base na informação contida no processo clínico do doente, no que se refere aos dados de identificação, diagnóstico clínico e tratamento efectuado, incluindo os resultados do diagnóstico Microbiológico.

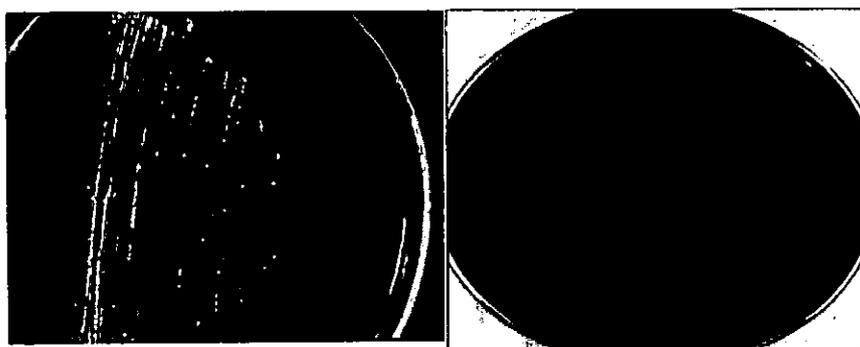
3.5- METODOLOGIA DE TRABALHO.

O estudo foi realizado nos Serviços de Cirurgia do H.C.M., com base em amostras provenientes de doentes previamente seleccionados, com infecções sugestivas de serem causadas por *S. aureus*.

As amostras foram colhidas através de punção-aspiração (com uma seringa), das colecções de pús de abscessos não fistulizados, fleimões e piomiosites. As seringas foram devidamente rotuladas e imediatamente levadas para o Laboratório do Serviço de Urgência do H.C.M. Em seguida as amostras foram enviadas para o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina da Universidade Eduardo Mondlane, onde foi feito o processamento das mesmas. Todos os resultados do processamento das amostras foram lançados numa ficha elaborada para o efeito (vide anexo III).

No Laboratório de Microbiologia, fez-se o registo das amostras e retirou-se uma parte da amostra para realização do exame microscópico que consiste na preparação do esfregaço, na sua fixação e posterior coloração de Gram (modificação de Hucker) o que permitiu observar o tipo de coloração, a morfologia e a disposição das bactérias. Este procedimento tinha como finalidade a identificação preliminar dos cocos Gram positivos, dispostos em cachos (Jawetz *et al.*, 1991 e Gilligan *et al.*, 1992) (vide 3.6).

Com a parte restante da amostra fez-se a cultura, que consistiu na deposição de aproximadamente uma gota da amostra na placa com um meio de cultura adequado (Agar Sangue, Agar Chocolate e Manitol Salt Agar) (Fig.1) e, com o auxílio de uma ansa estéril, próximo de uma chama (bico de bunsen), fez-se o riscado em placa de modo a se obterem colónias separadas. As placas inoculadas com o microrganismo foram incubadas a 37 °C em condições aeróbicas, aerofílicas e anaeróbicas por um período mínimo de 24 horas e um máximo de 48 horas.



(a)

(b)

Fig 1.a- Representação do meio de Agar sangue(a) e do meio Agar chocolate(b).

Após o período estimado de crescimento das bactérias, estas foram retiradas da incubadora e foi feita a observação macroscópica das características morfológicas das colónias para identificá-las como grandes, redondas, lisas, elevadas ou planas e brilhantes, etc.

As bactérias que registaram crescimento, foram submetidas novamente a coloração de Gram e à realização de provas bioquímicas para a identificação e isolamento de *S. aureus* (Gilligan et al. 1992).

As provas bioquímicas consistiram essencialmente na avaliação da fermentação dos açúcares (Manitol) e nas provas de Catalase e Coagulase.

Os estafilococos produzem a enzima catalase, que converte o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) em água (H_2O) e oxigénio (O_2), o que permite diferenciar os estafilococos, que são positivos, dos estreptococos, que são catalase negativos (Jawetz et al. 2000).

S. aureus pode ser distinguido de *Staphylococcus epidermidis* (não patogénico), através da reacção da coagulase. A primeira espécie é responsável pela produção da coagulase, uma proteína semelhante à enzima que coagula o plasma oxalatado ou citrado na presença de um factor contido em muitos soros, enquanto *Staphylococcus epidermidis* não produz a enzima coagulase (Jawetz et al. 2000).

Uma vez identificadas as colónias de *Staphylococcus aureus*, fez-se em seguida o antibiograma (teste de sensibilidade aos antibióticos) utilizando o método de Kirby-Bauer (citado por Cassals e Pringler 1987) (Fig. 3). Todas as amostras foram submetidas a avaliação da sensibilidade para o mesmo grupo de antibióticos (vide 3.6).

3.6- DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS

PREPARAÇÃO DO ESFREGAÇO.

Preparação do Esfregaço a partir de uma amostra.

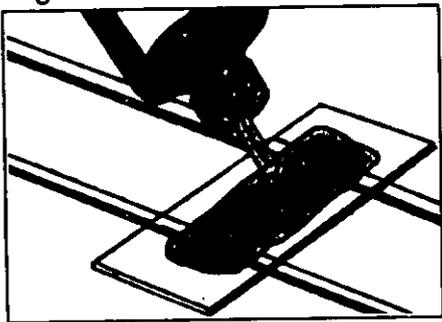
- Coloca-se uma gota de soro fisiológico na lâmina microscópica e adiciona-se uma gota da amostra.
- Mistura-se e distribui-se a suspensão de modo que se possa ler uma letra de um livro através da suspensão.
- Passa-se a face inferior da lâmina pela chama para se fixar o esfregaço.

Preparação de Esfregaço a partir de uma colónia.

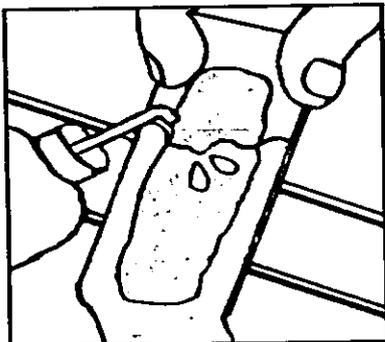
- Coloca-se uma gota do soro fisiológico na lâmina microscópica.
- Pica-se a colónia com uma ansa esterilizada e retira-se uma pequena amostra que é colocada na lâmina.
- Mistura-se e distribui-se a suspensão de modo que se possa ler uma letra de um livro através da suspensão.
- Passa-se a face inferior da lâmina pela chama para se fixar o esfregaço.

Técnica de Gram (modificação de Hucker)

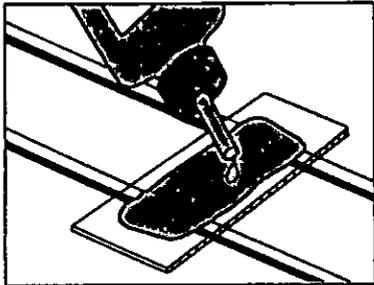
1. Cobre-se a lâmina com corante cristal violeta e deixa-se actuar cerca de 60 segundos.



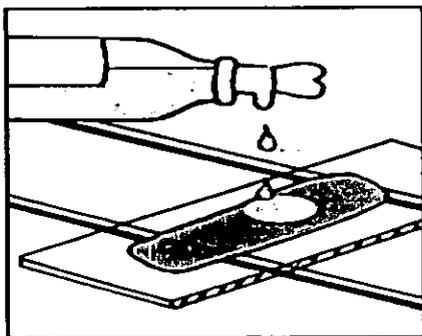
2. Retira-se o excesso de corante e, mantendo a lâmina em posição oblíqua, passa-se por água corrente com cuidado, para remover o corante excedente.



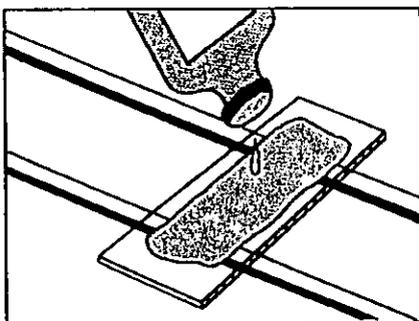
3. Cobre-se a lâmina com solução iodada e deixa-se actuar o iodo durante cerca de 60 segundos e depois passa-se por água corrente.



4. Cobre-se com álcool absoluto e renova-se, de um e outro lado da lâmina, até que esta fique incolor (durante 30 segundos), o que se observa facilmente colocando a lâmina contra um fundo branco. Lava-se com água corrente.



5. Aplica-se o corante de contraste (vermelho de safranina) durante 60 segundos.



6. Lava-se com água corrente e seca-se a lâmina ao ar seco.

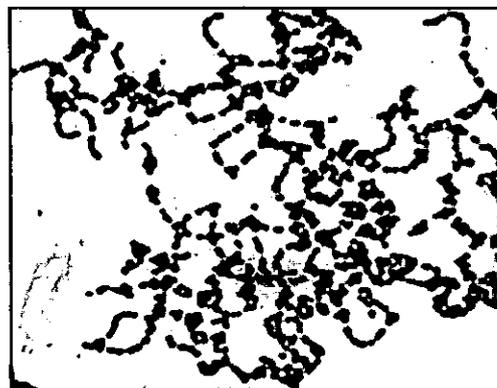
Gram(+) Coloração púrpura azulada.

Gram(-) Coloração vermelha.

7. Observa-se ao microscópio



(a)



(b)

Fig. 2- Observação em microscopia óptica de cocos Gram positivos (a) e bacilos Gram negativos (b).

FERMENTAÇÃO DE MANITOL

1. Inocula-se a placa com manitol Salt Agar com o microrganismo a testar e deixa-se a incubar durante 18 a 24 horas.
2. Observa-se a mudança da cor.

Inclui-se o ensaio controlo.

(+) Mudança da cor vermelha para cor amarela

(-) Se permanece vermelha.

REACÇÃO DE CATALASE

Catalase em tubo

- Coloca-se 0,5ml de água oxigenada num tubo de ensaio pequeno.
- Com um palito de madeira pica-se a colónia de teste e coloca-se no tubo.
- Observa-se a produção de bolhas.

Inclui-se o ensaio controlo.

Catalase (+). *S.aureus*

Catalase (-) *Streptococcus* B-hemolítico.

REACÇÃO DE COAGULASE

Coagulase em tubo.

- Inocula-se uma colónia de teste num frasco com caldo nutritivo (Anexo I) e incuba-se a 37 °C durante 24 horas.
- No dia seguinte, preparam-se 2 ml de uma solução a 10% de plasma humano citrado em soro fisiológico (1.8ml de soro fisiológico+0.2ml de plasma humano citrado num tubo de ensaio esterilizado).
- Com uma pipeta, adicionam-se 5 gotas da cultura em caldo nutritivo à solução diluída de plasma. Agita-se o tubo e incuba-se a 37 °C. Ao fim de 4 horas inclina-se o tubo para verificação de coagulação (sem mexer violentemente). Se ao fim de 24 horas não há formação de coagulo, deixa-se o tubo à temperatura ambiente até ao dia seguinte e verifica-se novamente a formação do coagulo.

(+)- *S. aureus*.

(-)- *S. epidermidis*.

ANTIBIOGRAMA

O antibiograma visava correlacionar a sensibilidade "in vitro" do micorganismo a uma concentração atingível clinicamente, através da incorporação do antimicrobiano num meio de cultura e observação da ocorrência ou não da inibição do crescimento do micorganismo (Youmans et al., 1983).

As provas de sensibilidade aos antibióticos foram efectuadas em agar de Mueller-Hinton (Oxoid) recomendado por Food and Drug Administration (F.D.A) e National Committee for Clinical Laboratory Standards (N.C.C.L.S), com uma colecção apropriada de antibióticos. Usou-se o método padronizado de *Kirby-Bauer*, em que se compara a turvação da suspensão do micorganismo com a solução de Sulfato de Bário correspondente a 0.5 da escala de Mac-Farland (Cassals e Pringler, 1987, Cook

e Amico, 1992 e Alcântara *et al.*, 1996), que se executa da seguinte maneira:

1. Identificam-se as caixas de Petri com agar de Mueller-Hinton.
2. Pica-se uma colónia a testar com uma ansa e inocula-se num frasco com 3ml. de caldo nutritivo, mistura-se bem para se conseguir uma suspensão homogénea.
3. Incuba-se até que a turvação no frasco onde se inoculou a colónia a testar seja idêntica a do frasco com a concentração de 0.5 da escala de Mac-Farland
4. Molha-se uma zaragatoa estéril na suspensão do microrganismo no caldo nutritivo.
5. Retira-se a zaragatoa pressionando-a contra a parede do frasco, de forma a retirar o excesso de líquido.
6. Inocula-se uniformemente, com a zaragatoa, toda a superfície da placa com agar de Mueller-Hinton e aguarda-se 5 minutos.
7. Aplicam-se assepticamente os discos de antibióticos de forma que cada caixa de Petri tenha no máximo, 6 discos dos antibióticos seleccionados.
8. Registam-se os antibióticos utilizados, usando para o efeito os códigos correspondentes.
9. Incubam-se as caixas inoculadas a 35°C durante 18 horas.
10. Medem-se, com uma régua, os diâmetros das zonas de inibição de cada antibiótico.
11. Classifica-se a reacção das bactérias a cada antibiótico (Vide Fig 3.)
(Anexo IV).

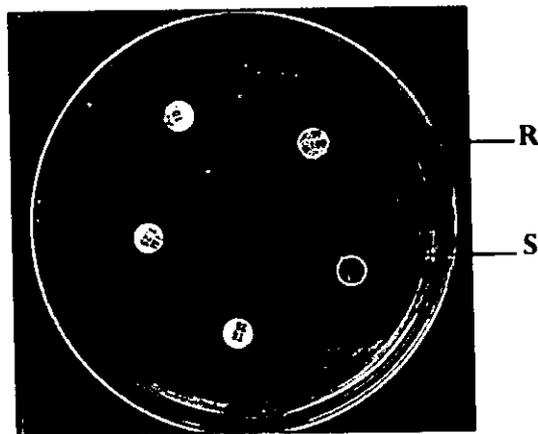
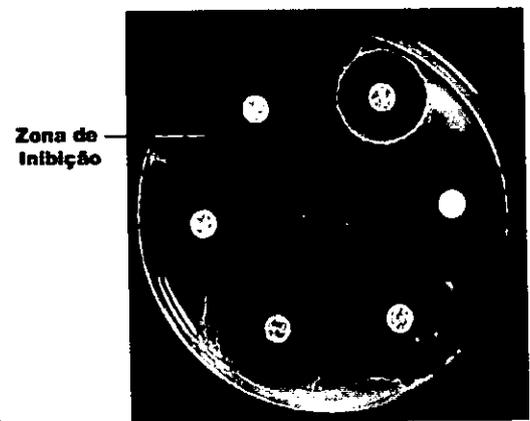
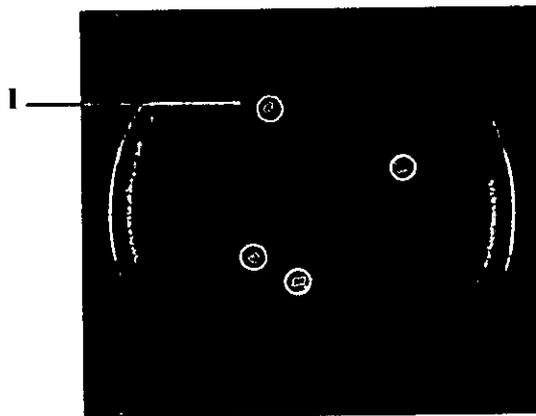


Fig. 3- Imagens de alguns dos antibiogramas obtidos, onde a letra S- evidencia a presença de um halo de inibição e considera-se sensível, a letra R-não há presença do halo de inibição e significa resistente e por último a letra I- com presença de um halo intermédio e considera-se resistência intermédia.

4- ANÁLISE ESTATÍSTICA

O processamento de dados foi feito no programa estatístico Epi Info, versão 6.04, tendo para o efeito, sido utilizado o teste Chi-quadrado para inferir a significância do padrão de sensibilidade do *S. aureus* aos antibióticos selecionados (vide anexo VI).

5- RESULTADOS

Foram processadas 170 amostras, das quais 105 provenientes do SUR, 48 amostras dos Serviços de Cirurgia Pediátrica e 17 amostras provenientes de diferentes serviços do HCM (vide Fig.4)

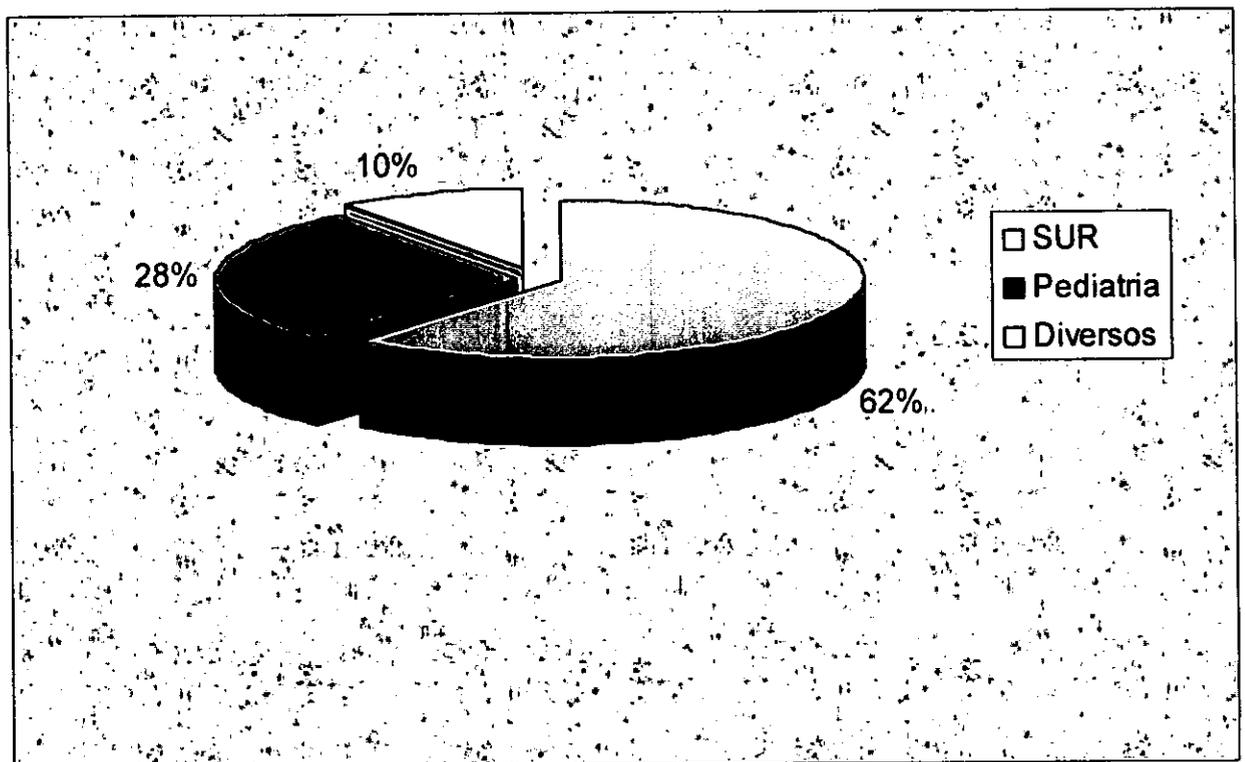


Fig.4- Amostras Processadas e sua proveniência.

Do total de amostras processadas, 101/170 (59%) estirpes foram isoladas e identificadas como *S. aureus* (vide Fig.5)

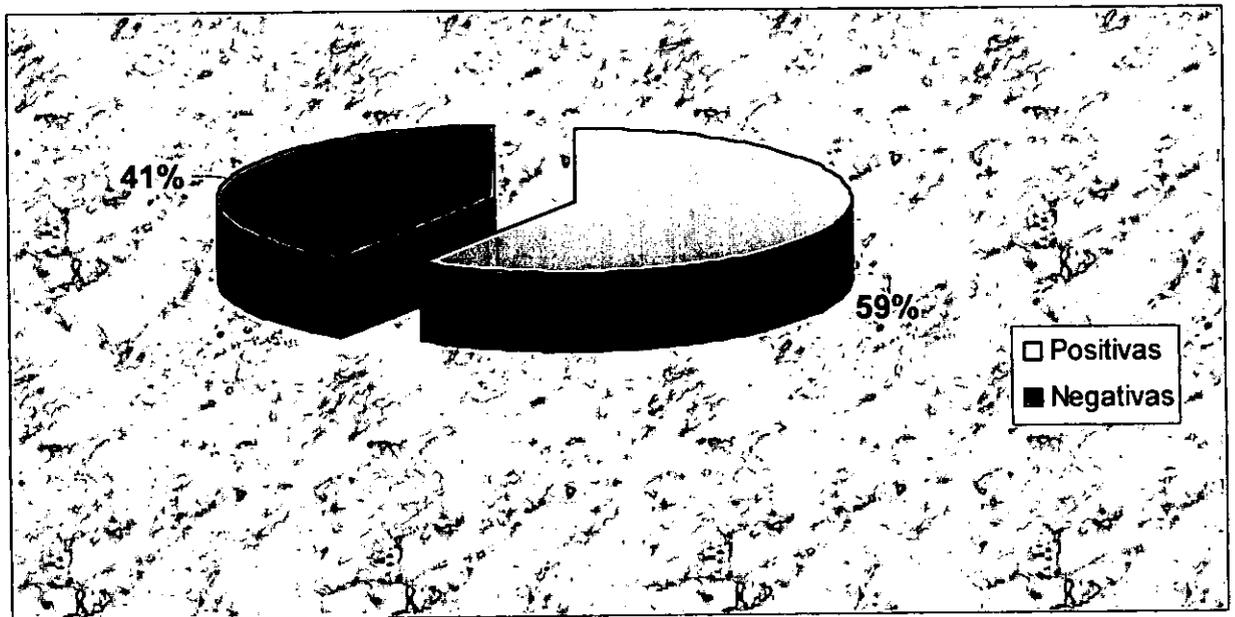


Fig.5- Estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas.

Nas restantes amostras, 16 estirpes foram identificadas como *Streptococcus sp.*, 6 estirpes-*Escherichia coli*, 5 estirpes-*Staphylococcus sp.*, 3 estirpes-*Klebsiella sp.* e 1 estirpe como *Proteus sp.*(vide Fig.6)

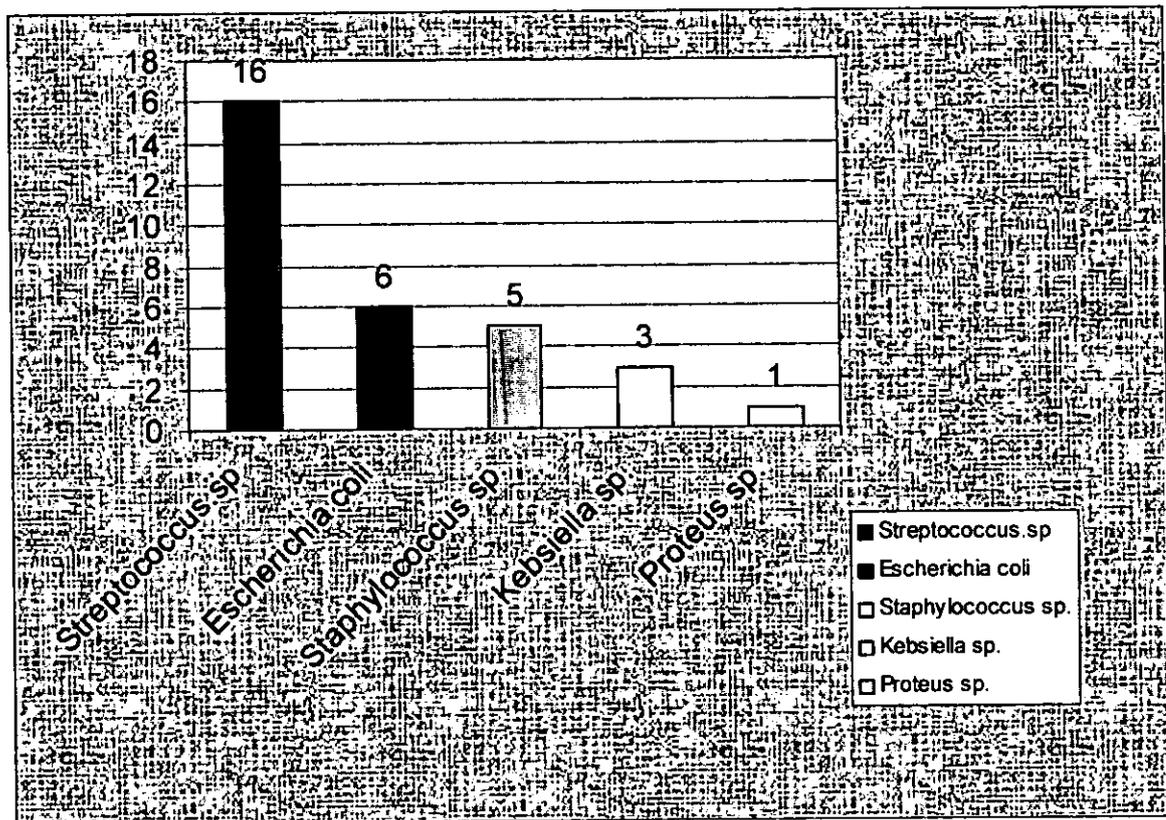


Fig. 6 - Diferentes etiologias das infecções supurativas da pele.

Das amostras analizadas, 54/101 (53%) das estirpes de *S. aureus* provieram de pacientes do sexo Masculino e 47/101 (47 %) do sexo Feminino (vide Fig.7).

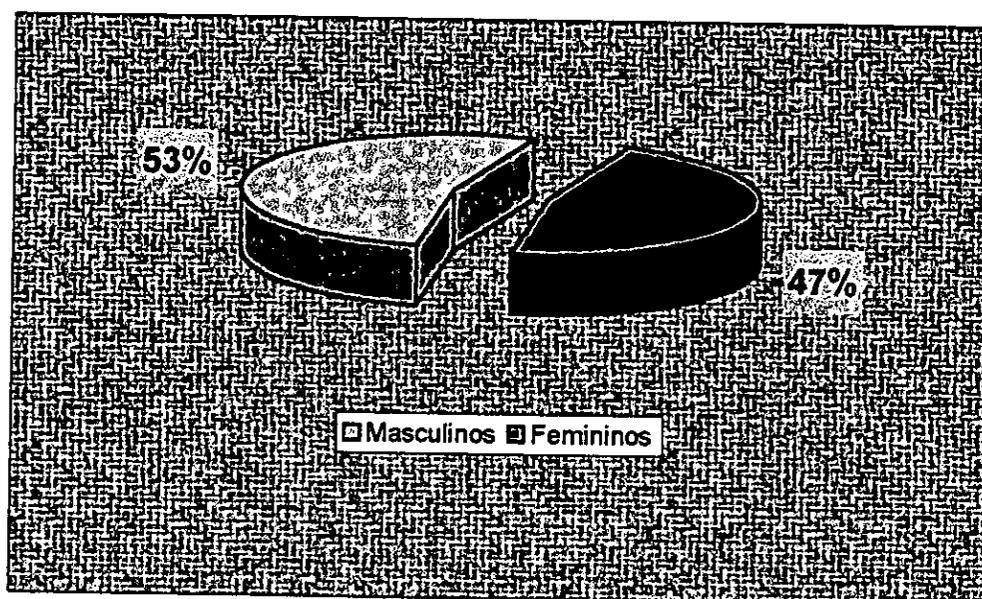


Fig.7 Isolamento do *S. aureus* por sexo

A distribuição das infecções supurativas da pele, causadas pelo *S. aureus* por grupos etários está ilustrada na Fig. 8. Contudo em 19 doentes dos 101 com infecções causadas por *S. aureus*, não foi feito o registo da respectiva idade. Encontramos diferenças estatisticamente significativas das infecções supurativas da pele ($p < 0.05$), no grupo etário dos 0 aos 5 anos de idade em relação aos restantes grupos etários (Anexo V). É de salientar que os indivíduos cuja idade não foi registada (19), não foram incluídos no cálculo estatístico.

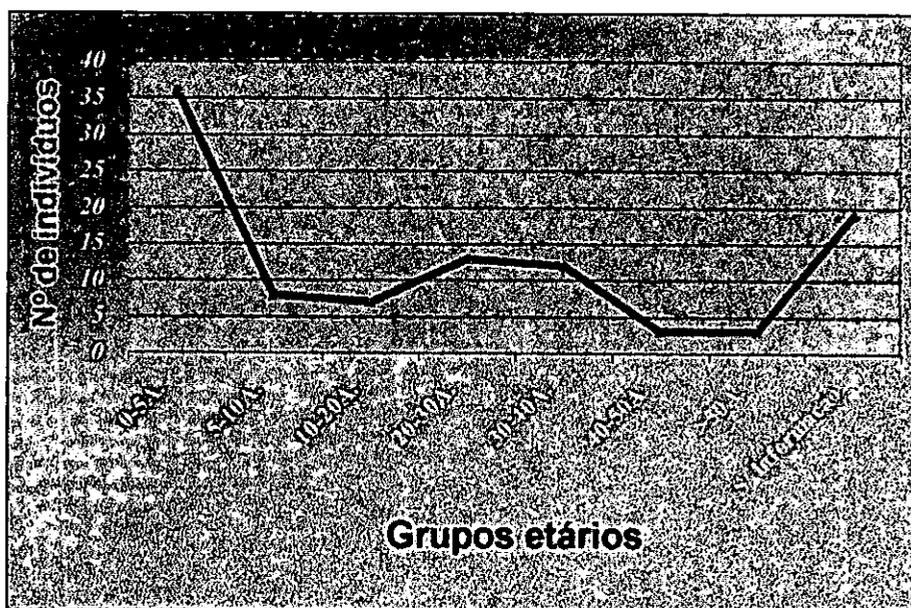


Fig 8- Distribuição das infecções estafilocócicas por grupos etários.

Os abscessos constituíram o tipo de manifestação clínica mais frequente, com 86 casos, seguida do fleimão com 10 casos e as piomiosites com 7 casos , aos restantes casos não foi feita a caracterização do tipo de lesão (vide Fig. 9).

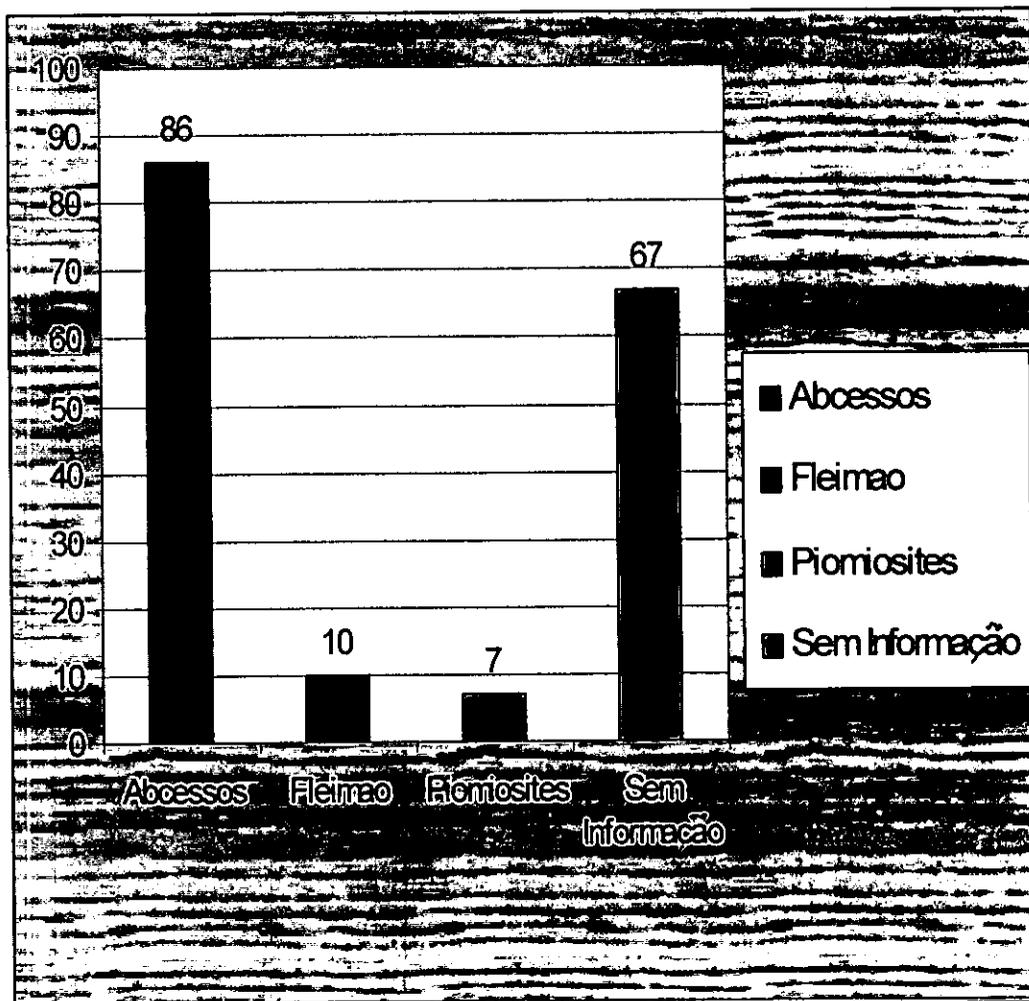


Fig.9 -Manifestações clínicas das infecções da pele

Foi feita a avaliação do padrão de sensibilidade do *S. aureus* a diferentes tipos de antibióticos utilizados de uma forma geral, no tratamento de infecções estafilocócicas; o número de estirpes sensíveis a cada um dos antibióticos selecionados para o estudo encontra-se representado na Fig. 10.

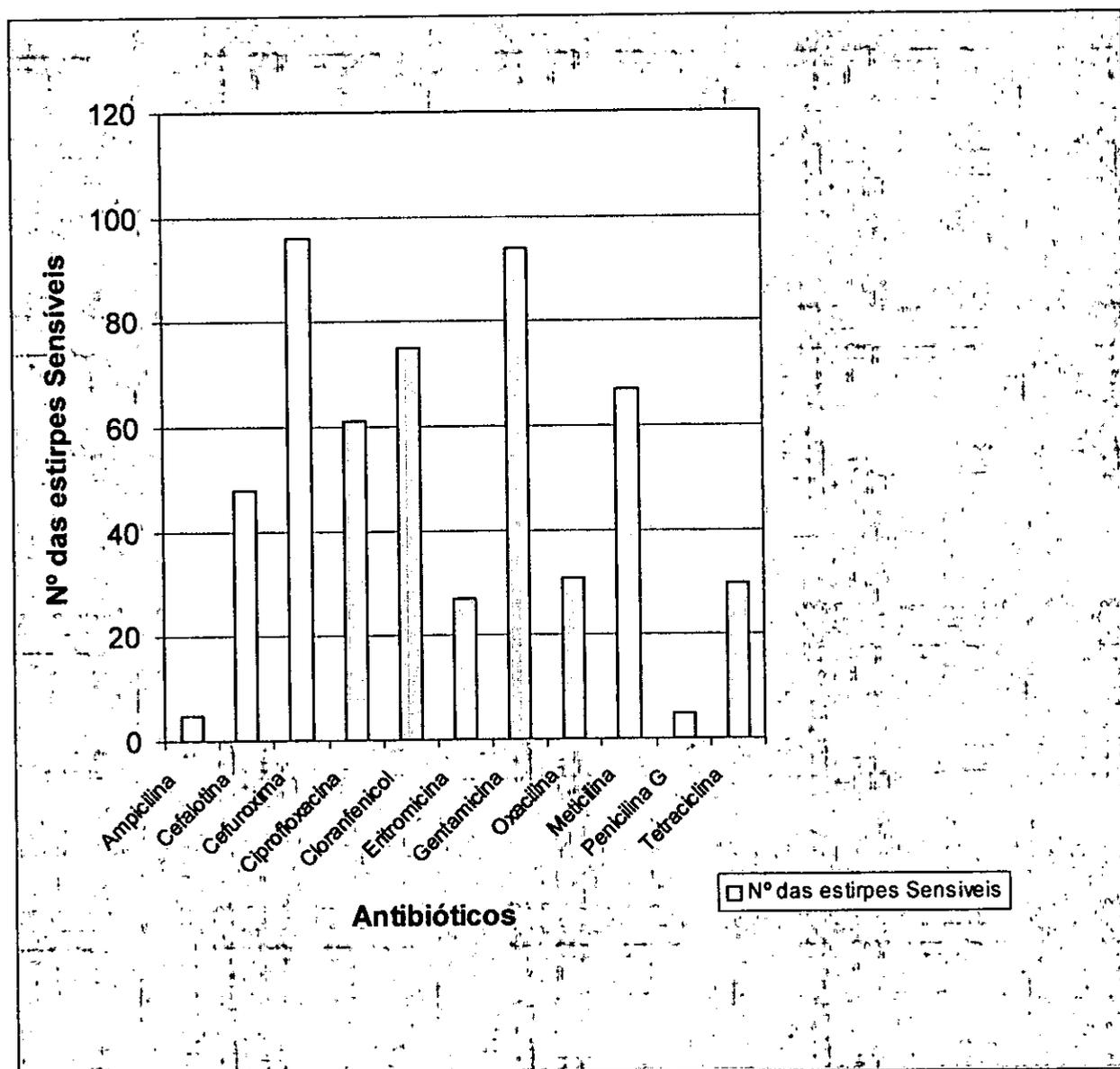


Fig. 10- Padrão de sensibilidade de *S. aureus* aos diferentes antibióticos.

Os resultados do teste de sensibilidade aos antibióticos, nomeadamente entre as estirpes sensíveis, com resistência intermédia e resistentes estão representados na Fig. 11.

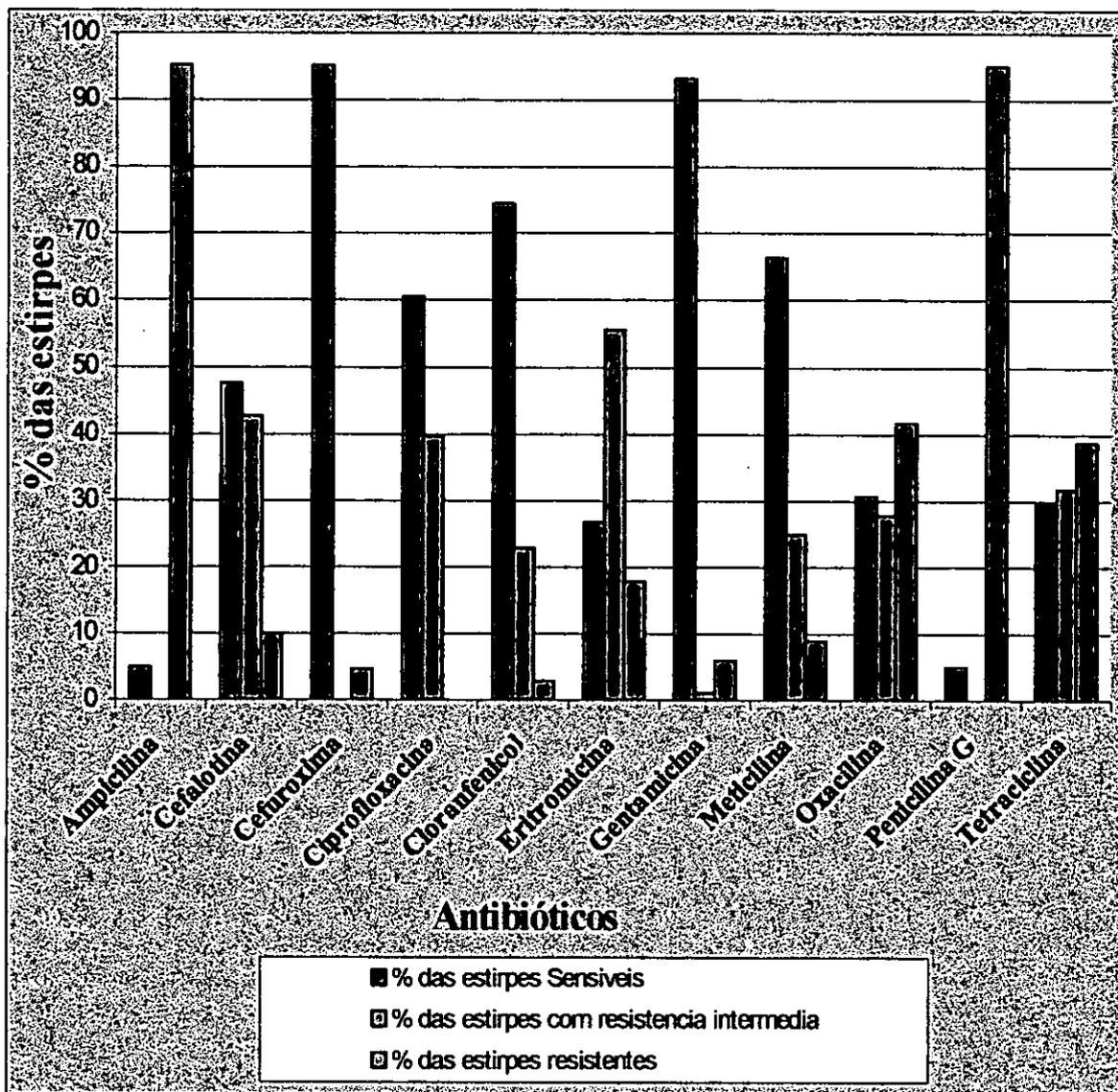


Fig. 11-Resultados dos antibiogramas em termos de % de estirpes resistentes, com resistência intermédia e sensíveis a cada um dos antibióticos testados.

6- DISCUSSÃO

Neste estudo foram processadas amostras de secreção purulenta provenientes de 170 doentes, número relativamente abaixo do que fora inicialmente previsto (N=200), tal facto deveu-se em parte à chegada tardia do material necessário para o estudo e a reduzida afluência dos doentes com infecções suspeitas de serem causadas por *S. aureus*, principalmente no último período (Maio/01) deste estudo.

É de salientar que a época do ano (Março-Maio) em que o estudo foi realizado não é de maior ocorrência de infecções causadas por *S. aureus*. Com efeito, parece existir uma variação sazonal na frequência de infecções supurativas da pele, aumentando estas, na época quente e diminuindo na época fria, como vem referido no Gilligan et al. (1992).

A maior parte das amostras (62%), foram enviadas a partir dos Serviços de Urgência de Cirurgia -SUR (vide Fig. 4). Na realidade a grande maioria dos doentes com infecções do tipo abscesso, fleimão ou piomiosite é orientada directamente para o SUR do HCM, onde normalmente é feita a drenagem das supurações, posteriormente tratamento com antibióticos e em seguida os doentes têm alta hospitalar. Contudo, as crianças são normalmente internadas na enfermaria de Cirurgia Pediátrica, sendo depois feito o tratamento adequado conforme os casos.

A frequência de infecções estafilocócicas (59%) foi relativamente elevada no grupo estudado (vide Fig.5) o que reflecte, provavelmente, uma alta difusão do *S. aureus* na população. *deniminação*

A Fig. 7 demonstra que para além do *S. aureus*, outras bactérias estão implicadas nas infecções supurativas da pele, principalmente espécies do género *Streptococcus*, no entanto, o isolamento de outras bactérias (*Escherichia coli*,

Klebsiella sp. e *Proteus sp.*) poderá ser o resultado de uma eventual contaminação dos doentes.

Não existe uma diferença significativa ($p > 0.05$) entre Mulheres e Homens no que se refere à prevalência de infecções causadas por *S. aureus* (vide Fig. 8) pelo facto de ambos os grupos se encontrarem expostos aos mesmos factores de risco de contaminação.

Existem diferenças estatisticamente significativas em termos de distribuição das infecções estafilocócicas pelos diferentes grupos etários ($p < 0.05$), sendo as crianças com menos de 5 anos de idade, o grupo que apresenta maior frequência de infecções da pele (vide Fig. 9), pelo facto de estar mais exposto à contaminação e possuir menor resistência às infecções, tal como vem referido no MISAU (1983).

A manifestação clínica mais frequente das infecções estafilocócicas da pele foi o abscesso (50,6%), seguido do fleimão. Na realidade, as infecções supurativas dos tecidos moles tendem a formar colecções localizadas de pús. No entanto em 67 (39,4%) dos doentes não foi registado o tipo de lesão que estes apresentavam (vide Fig. 10).

Através de uma tabela de contingência 2x2 entre o resultado do isolamento do *S. aureus* e a coloração de Gram (Anexo VII), foi calculada a sensibilidade do método de Gram (98%) e o valor predictivo positivo do mesmo (VPP), no diagnóstico de uma infecção supurativa de etiologia estafilocócica (VPP= 77,1%) (vide anexo VII). Estes resultados, constituem um bom indicador para realização da coloração de Gram, como um teste relevante em Unidades Sanitárias onde não existem condições técnicas para cultura e posterior identificação do *S. aureus*.

A avaliação do padrão de sensibilidade do *S. aureus* aos diferentes tipos de antibióticos, revelou que esta bactéria apresenta maior sensibilidade à Cefuroxima, seguida da Gentamicina, Cloranfenicol e Meticilina respectivamente (vide Fig. 11). A elevada sensibilidade do *S. aureus* ao grupo de antibióticos referidos, poderá ser

devido ao facto do alto seu custo restringir a utilização massiva dos mesmos. Por outro lado, a via de administração injectável (Gentamicina) limita o seu uso de uma forma geral, às unidades sanitárias. Este facto é de particular importância, uma vez que uma das causas fundamentais da emergência de estirpes resistentes reside no facto da utilização não racional dos antibióticos.

Em relação à Eritromicina, representante da classe dos macrolídeos, uma elevada percentagem de estirpes de *S. aureus* mostrou uma resistência intermédia, resultado este não esperado, porque de acordo com a literatura, este antibiótico apresenta boa actividade antimicrobiana (Youmans *et al.* 1983). Segundo o mesmo autor, estudos sobre resistência bacteriana à Eritromicina não conseguiram demonstrar evidências de que as bactérias possam alterar enzimaticamente a estrutura do antibiótico.

Os resultados do teste de sensibilidade aos antibióticos demonstram que *S. aureus* apresenta resistência acentuada à Ampicilina e à Penicilina G (vide Fig. 12). Tal situação resulta, provavelmente, da utilização indiscriminada e massiva da Ampicilina e Penicilina G, cuja venda não licenciada, e não devidamente controlada, é feita no mercado informal.

O teste Chi-quadrado mostrou que os resultados do antibiograma são significativos para todos os antibióticos seleccionados para o efeito, com $p < 0.005$ (vide anexo VIII), exceptuando-se a Tetraciclina, cujos resultados não são significativos. ($X^2=1.3$ e $p=0.52205$).

O mundo está actualmente preocupado com o surgimento e alastramento de estirpes de *S. aureus* com resistência a muitos antibióticos e em especial à Meticilina (Murray *et al.* 1995 e Calda *et al.* 1999). As estirpes envolvidas neste estudo são na sua maioria sensíveis a este antibiótico apesar da rapidez com que os microrganismos adquirem resistência aos agentes antimicrobianos. No entanto, algumas destas estirpes parecem ser ORSA.

Neste estudo, muitas estirpes de *S. aureus* foram sensíveis à maior parte dos antibióticos seleccionados para o efeito, no entanto há que ter em conta que estes microrganismos desenvolvem resistência medicamentosa muito rapidamente. ■

sendo assim, há uma ^{necessidade} de se efectuarem estudos regulares e mais consistentes (melhor caracterização do grupo de doentes) que possam permitir, por um lado, conhecer a etiologia e prevalência das infecções supurativas da pele, mas por outro lado, saber o padrão de sensibilidade dos microrganismos aos antibióticos, o que permitirá uma orientação clínica e um tratamento adequado e eficaz dos pacientes.

7- CONCLUSÕES

Os resultados do estudo demonstraram que existe uma ^{elevada} alta frequência de infecções por *Staphylococcus aureus* na população estudada.

A Cefuroxima, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Gentamicina e Meticilina são os antibióticos para os quais as estirpes de *S. aureus* apresentaram maior sensibilidade.

Os antibióticos como a Penicilina e Ampicilina (que são de maior disponibilidade e utilização massiva pela população) são os que apresentam maior índice de resistência por parte das estirpes de *S. aureus*.

Os abscessos constituíram a manifestação clínica predominante das infecções supurativas da pele.

De acordo com os resultados do presente estudo, conclui-se que algumas das estirpes isoladas são do tipo ORSA (*Staphylococcus aureus* resistente a Oxacilina).

8- RECOMENDAÇÕES

Devido a variação sazonal das infecções supurativas da pele, recomenda-se que estudos semelhantes sejam efectuados na época quente.

O padrão de sensibilidade dos microrganismos aos antibióticos é grandemente influenciado pela forma como estes são utilizados num determinado hospital ou mesmo numa determinada região geográfica. Por isso, recomenda-se que diferentes hospitais e outras unidades sanitárias façam avaliações periódicas do padrão de sensibilidade aos antibióticos.

Recomenda-se igualmente que em futuros trabalhos similares, se faça a avaliação do Padrão de sensibilidade, tendo em conta a concentração mínima inibitória (C.M.I.) o que permitirá uma melhor caracterização do padrão de sensibilidade das estirpes isoladas.

Com este estudo espero que os médicos e outros profissionais de saúde fiquem alertados sobre os níveis emergentes de resistência de *S. aureus* aos antibióticos e ainda sobre a necessidade da utilização racional dos mesmos.

Finalmente, sugerimos a criação de uma base de dados que possa ser utilizada em futuros programas de controle de infecções e monitorização da sensibilidade à antibióticos.

9- BIBLIOGRAFIA

1. Alcamo, I. E. (1991). Fundamental of Microbiology. Third edition. pp (256-333). Benjamin Cummings Publishing Company, Inc., New York.
2. Alcântara, F., Cunha, M.A., Almeida, M.A. (1996). Microbiologia-Praticas laboratoriais. 279pp. Universidade de Aveiro, Departamento de Biologia, Campus Universitário de Santiago, Aveiro.
3. Aleman C.J., Echevarria, R.A., Rodriguez, C.C., Santovenia, J.M.B., Hernandez, P., Martnez, D.G., Lozano, R.B., Alfaro, J.G., Posada, B.H. (1989). Laboratório. Tomo2, Volume1. pp (238-243). Pueblo y Educacion, Habana, Cuba.
4. Atlas, R. M. (1984). Microbiology. pp (352-607). Macmillan Publishing Company, New York.
5. Burnett, G.W., Scherp, H.W., Schuster, G.S.(1978). Microbiologia oral & Doenças infecciosas. 4ª Edição. pp (399-410). Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro.
6. Calda, F.A.A.T., Fernandes, F.T., Nonaka, S.T., Gonçalves, R.O., e Tanak M.A. (1999). Estudo da frequência do isolamento do *Staphylococcus aureus*. 2pp, Faculdade Estadual de Medicina de São Paulo.
7. Cassals, J.B. e Pringler, N. (1987). Antimicrobial Sensitivity Testing Neo-Sensitabs. pp(3-29). Rosco Diagnostica-Taastrup. Denmark.
8. Centers for Diseases Control and Prevention. (1999). Antimicrobial Resistance. 2pp.

9. Cook, J. e Amico C. (1992). Manual Básico de Bacteriologia. 77pp. Ministério da Saude, Maputo, Moçambique.
10. Duguid, J.P., Cruickshank, R., Marmion, B.P. e Swain, C.H.A. (1975). Microbiologia Médica, Volume II, 4ª Edição. pp (697-717). Lisboa.
11. Farias W.V.L., Shader, H.S., Leme, L. e Pignatary, A.C. (1997). Padrão de Sensibilidade de 117 Amostras Clínicas de *Staphylococcus aureus*. 9pp. Universidade Federal de São Paulo.
12. Ferreira, A.W. e Ávila, S. L.M. (1996). Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes. pp(85-92). Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro.
13. Gilligan, P.H., Shapiro, D.S. e Smiley, M. L., (1992). Cases in Medical Microbiology and Infection Diseases. 274pp. American Society for Microbiology, Washington United States of America.
14. Hoeprich, P.D. (1982). Tratado de enfermidades infecciosas. Volume1, 2ª, Edição. pp (542-544). Ciudad de la Habana, Cuba.
15. Lennette, E.H., Balows, A., H., William, J.H. Shadomy, H.J. (1985). Manual of Clinical Microbiology. 40ª Edition. pp (143-151). United States of America.
16. Ketchum, A. P. (1988). Microbiology. pp (570-606). John Wiley & Sons, Inc., United States of America.
17. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, A.E., Brooks, G.F., Butel, J.S. e Ornston, L. N. (1991). Microbiologia Médica. 18ª Edição. pp (131-477). Editora Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro.

18. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, A.E., Brooks, G.F., Butel, J.S., e Morse A.S. (2000). Microbiologia Médica. 21ª Edição. pp (158-162). Editora Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro.
19. MISAU. (1983). Manual de Microbiologia Médica. pp(30-35). MISAU, Maputo Moçambique.
20. Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, F. C., Yolken, R.H. (1995). Manual of Clinical Microbiology. Sixth Edition. pp(143-151). Washington, United States of America.
21. Murray, P.R., Rasmussen, K.S., Kobayashi, G.S., Pfaller, M. A., (2000). Microbiologia Médica. Terceira Edição. pp(147-158), Editora Guanabara Koogan SA, Rio de Janeiro.
22. Pelczar, M., Reid, R., Chain, E.C.S. (1981). Microbiologia. Volume II. pp (735-820). Mc Graw-Hill , Brasil.
23. Vio, F. (1984). Manual dos medicamentos essenciais. MISAU, Maputo, Moçambique.
24. Youmans, G. P., Paterson, P Y. E Sommers, H.M. (1983). Bases Biológicas e Clínicas das Doenças Infecciosas. pp (809-880). Artes Médicas Ltd, Filadélfia, USA.
25. William, D., Bergan, T. e Moosden, F. (1998). News letter of the International Society of Chemotherapy. Antibiotics Chemotherapy, 2 (2): 5-6.
26. William, D., Bergan, T. e Moosden, F. (1999)., News letter of the International Society of Chemotherapy. Antibiotics Chemotherapy, 3 (2): 9-15.

ANEXOS

Anexo I

1º- Agar sangue

a) Descrição.

O Agar sangue é um meio de cultura enriquecido, utiliza-se na cultura de bactérias fastidiosas (as que precisam de muitos factores de crescimento) e para visualizar as reacções hemolíticas.

b) Reagentes e vidraria necessária

Blood Agar Base.

Sangue completo esteril

Placas de petrí de 10 cm de diâmetro

Balão de 1000 ml.

Proveta de 1000 ml esterilizada.

Proveta de 500 ml.

c) Preparação de 15 placas de Agar sangue.

1- Pesam-se 20 g de Blood Agar Base.

2- Põe-se 465 ml de H₂O destilada num balão de 1000 ml e adiciona-se o pó do meio já pesado.

3- Aquece-se a suspensão, agitando-se frequentemente até ferver,

4- Esteriliza-se o meio no autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

5- Deixa-se o meio arrefecer até 50 °C.

6- Adicionam-se 35 ml de sangue completo ao meio básico já arrefecido e mistura-se o meio rodando cuidadosamente o balão evitando a produção de bolhas.

7- Distribui-se o meio em placas de petrí estéreis do modo que o meio tenha uma profundidade de 4mm.(≈33 ml por cada placa)

8- Guardam-se as placas num saco plastico rotulado com a data da preparação.

d) Consumo de reagentes

Blood Agar Base (500 g) para aproximadamente 375 placas

2º- Agar Chocolate

a) Descrição.

O Agar Chocolate é um meio de cultura enriquecido, utiliza-se na cultura de bactérias fastidiosas (as que precisam de muitos factores de crescimento) e para visualizar as reacções hemolíticas.

b) Reagentes e vidraria necessária

Blood Agar Base (Oxoid).

Sangue completo esteril

Placas de petrí de 10 cm de diâmetro

Balão de 1000 ml.

Proveta de 1000 ml esterilizada.

Proveta de 500 ml.

c) Preparação de 15 placas de Agar sangue.

1- Pesam-se 23 g de Brain infusion Agar .

2- Põe-se 450 ml de H₂O destilada num balão de 1000 ml e adiciona-se o pó do meio já pesado.

3- Aquece-se a suspensão, agitando-se frequentemente até ferver,

4- Esteriliza-se o meio no autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

5- Deixa-se o meio arrefecer até 80 °C em banho maria.

6- Adicionam-se 50 ml de sangue completo ao meio básico já arrefecido e mistura-se o meio rodando cuidadosamente o balão evitando a produção de bolhas.

7- Distribui-se o meio em placas de petrí estéreis do modo que o meio tenha uma profundidade de 4mm.(≈33 ml por cada placa)

8- Guardam-se as placas num saco plastico rotulado com a data da preparação.

d) Consumo de reagentes

Brain Heart infusion Agar (500 g) para aproximadamente 373 placas .

3º- Manitol Salt Agar.

a) Descrição.

O Manitol Sat Agar é um meio de cultura usado para identificar espécies bacterianas que são capazes de crescer em meios com elevada concentração de Cloreto de Sódio e que fermentam o manitol, como é o caso de *Staphylococcus aureus*.

b) Reagentes e vidraria necessária

Manitol Salt Agar .

Placas de petrí de 10 cm de diâmetro

Balão de 1000 ml.

Proveta de 1000 ml esterilizada.

Proveta de 500 ml.

c) Preparação de ≈33 placas de Manitol Salt Agar .

1- Pesam-se 55.5 g de Manitol Salt Agar.

2- Põe-se 500 ml de H₂O destilada num balão de 1000 ml e adiciona-se o pó do meio já pesado.

3- Aquece-se a suspensão, agitando-se frequentemente até ferver,

4- Esteriliza-se o meio no autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

5- Deixa-se o meio arrefecer até 50 °C.

6- Distribui-se o meio em placas de petrí estéreis do modo que o meio tenha uma profundidade de 4mm.(≈33 ml por cada placa)

7- Guardam-se as placas num saco plástico rotulado com a data da preparação.

d) Consumo de reagentes

Manitol Salt Agar (500 g) para aproximadamente 594 placas

4º- Caldo nutritivo

a) Descrição

O Caldo nutritivo é um meio líquido, básico que para além de outras finalidades é utilizado para as provas de coagulase.

b) Reagentes e vidraria necessária.

Nutrient broth. (Oxoid).

Tubos de ensaio. —————

Balão de 100 ml.

Proveta de 100 ml.

c) Preparação do meio.

1- Pesam-se 0.8 g de Nutriente Broth num papel.

2- Põe-se 60 ml de água destilada num balão de 100 ml e adiciona-se o pó já pesado.

3- Aquece-se o meio até dissolver.

4- Distribui-se aproximadamente 3 ml de meio em tubos de ensaio.

5- Esterilizam-se os tubos com meio no autoclave a 121 °C durante 15 minutos com as tampas dos tubos ligeiramente abertas.

6- Fecham-se as tampas dos tubos antes do arrefecimento completo dos tubos.

7- Conservam-se na geleira a 2-5 °C

d) Consumo de reagentes

Nutriente Broth (500 g) para aproximadamente 12500 tubos de ensaios.

5º- Agar de Mueller-Hinton

a) Descrição.

O Agar de Mueller-Hinton é um meio geral, utilizado na maioria dos testes de sensibilidade a antibióticos.

b) Reagentes e vidraria necessária

Mueller-Hinton Agar (Oxoid).

Placas de petrí de 10 cm de diâmetro

Balão de 1000 ml.

Proveta de 500 ml.

c) Preparação de 15 placas de Agar de Mueller-Hinton.

1- Pesam-se 17.5 g de Mueller-Hinton Agar num papel.

2- Deita-se 500 ml de H₂O destilada num balão de 1000 ml e adiciona-se o pó do meio já pesado.

3- Aquece-se a suspensão agitando se frequentemente até ferver.

4- Esteriliza-se o meio de cultura no autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

5- Deixa-se o meio arrefecer até a 50 °C.

6- Distribui-se o meio em placas de Petri estereis de modo que o meio tenha uma profundidade de 4 mm(≈33 ml por cada placa).

7- Guardam-se as placas num saco plástico rotulado com a data da preparação.

d) Consumo de reagentes

Mueller-Hinton Agar (500 g) para aproximadamente 430 placas

Anexo II



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE MEDICINA / FACULDADE DE CIÊNCIAS
LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA DO HOSPITAL CENTRAL DE MAPUTO

Estudo ligado a avaliação do padrão de sensibilidade do *Staphylococcus aureus*.



Ficha Nº- _____

Data ____ / ____ / 01

NID : _____

Nome _____

Sexo: Masculino Feminino

Idade ____ A / M

Cama Nº- (se hospitalizado) _____

Serviço: Cirurgia Pediátrica

Residência: _____

Diagnóstico Clínico: Abcesso não fistulizado Fleimão Piomiosite

Fez tratamento prévio com antibióticos: Sim Não

Se Sim especifique: Penicilina Ampicilina Tetraciclina

Cotrimoxazol Outros _____ Oral IV IM

Há quanto tempo: _____

Hora de colheita da amostra: ____ H ____ Min

O Clínico

(Ass. Legível)

Anexo II continuação



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE MEDICINA / FACULDADE DE CIÊNCIAS
LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA DO HOSPITAL CENTRAL DE MAPUTO

Estudo ligado a avaliação do padrão de sensibilidade do *Staphylococcus aureus*.

Ficha Nº- _____

Data ___/___/01

NID : _____ Nº Registo-SUR _____

Nome _____

Sexo: Masculino Feminino

Idade ___ A / M

Cama Nº- (se hospitalizado) _____

Serviço: Cirurgia Pediátrica Cirurgia II Cirurgia III

Residência: _____

Diagnóstico Clínico: Abscesso não fistulizado Fleimão Piomiosite

Fez tratamento prévio com antibióticos: Sim Não

Se Sim especifique: Penicilina Ampicilina Tetraciclina

Cotrimoxazol Outros _____ Oral IV IM

Há quanto tempo: _____

Hora de colheita da amostra: ___ H ___ Min

O Clínico

(Ass. legível)

Anexo III
Ficha Nº- _____

Data ___ / ___ / 01

Resultados Laboratoriais

Exame directo

Bactérias: Presentes ___ Ausentes ___

Coloração de Gram. Positiva ___ Negativa ___

Morfologia _____

Observações _____

Cultura

Meios de Cultura	Houve crescimento	Não houve crescimento
Agar Sangue		
Manitol Salt Agar		
Agar Chocolate		

Caracterização das colónias :

Côr: _____

Morfologia: _____

Provas de Identificação

Fermentação de Manitol

Positiva _____ Negativa _____

Reacção de Catalase

Catalase Positiva _____ Catalase Negativa _____

Reacção de Coagulase

Coagulase Positiva _____ Coagulase Negativa _____

Diagnóstico Microbiológico:

Anexo IV
Antibiograma

Resultados do teste de Sensibilidade aos antibióticos

Antibiótico	Concentração do disco	Resistente	intermédio	Sensível
Ampicilina	10µg			
Cefalotina	5µg			
Cefuroxima	30µg			
Ciprofloxacina	5µg			
Cloranfenicol	30µg			
Eritromicina	10µg			
Gentamicina	10µg			
Meticilina	5µg			
Oxacilina	1µg			
Penicilina G	10 Units			
Tetraciclina	10µg			

Anexo V

Fig. 8 Distribuição das infecções estafilocócicas por grupos etários
(Nao incluidos os casos sem informação)

Grupos etários	Infecção por S. aureus
0-5A.	36
5-10A.	8
10-20A.	7
20-30A.	13
30-40A.	12
40-50A.	3
>50A.	3
S/ Informacão	19

Chi-quadrado=66.7, gl=6, e p=0.00000

Anexo VI

Fig. 10 Padrão de sensibilidade de *S. aureus* aos diferentes antibióticos selecionados

Antibióticos	Nº das estirpes Sensíveis
Ampicilina	5
Cefalotina	48
Cefuroxima	96
Ciprofloxacina	61
Cloranfenicol	75
Eritromicina	27
Gentamicina	94
Meticilina	31
Oxacilina	67
Penicilina G	5
Tetraciclina	30

Fig. 11 Resultados do antibiograma em termos de % das estirpes resistentes, com resistência intermedia e sensíveis a cada antibiótico testado

Antibióticos	% das estirpes Sensíveis	% das estirpes com resistência intermedia	% das estirpes resistentes
Ampicilina	4.9	0	95.1
Cefalotina	47.5	42.6	9.9
Cefuroxima	95.1	0	4.6
Ciprofloxacina	60.4	39.6	0
Cloranfenicol	74.3	22.8	2.9
Eritromicina	26.7	55.5	17.8
Gentamicina	93.1	1	5.9
Meticilina	66.3	24.8	8.9
Oxacilina	30.7	27.7	41.6
Penicilina G	5	0	95
Tetraciclina	29.7	31.7	38.6

Anexo VII

Coloração de Gram (cocos em cachos)	Staphylococcus aureus		Total
	+	-	
+	98	29	127
-	2	40	42
Total	100	69	169

Tabela 1- Relação entre a coloração de Gram e o isolamento do S. aureus.

$$\text{Sensibilidade} = \frac{\text{Verdadeiros positivos}}{\text{Verdadeiros positivos} + \text{Falso Negativos}} * 100\%$$

$$\text{Valor Preditivo Positivo} = \frac{\text{Verdadeiros Positivos}}{\text{Verdadeiros Positivos} + \text{Falsos Positivos}} * 100\%$$

Sensibilidade = 98%

Valor Preditivo Positivo = 77.2%

AnexoVIII
Valores obtidos do teste Chi-quadrado dos dados do antibiograma com $gl=2$

Antibióticos	Chi-quadrado	p
Ampicilina	139.6	$p=0.00000$
Cefalotina	25.5	$p=0.00000$
Cefuroxima	140.3	$p=0.00000$
Ciprofloxacina	23.2	$p=0.00001$
Cloranfenicol	82.1	$p=0.00000$
Eritromicina	23.5	$p=0.00001$
Gentamicina	163	$p=0.00000$
Meticilina	20.7	$p=0.00000$
Oxacilina	36	$p=0.00003$
Penicilina G	139.6	$p=0.00000$
Tetraciclina	1.3	$p=0.52205$