



AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE UM MEIO SELETIVO PARA TRIAGEM DE PORTADORES DE *Streptococcus pneumoniae* NÃO SUSCEPTÍVEL A PENICILINA

Kelly Cristina Suzue Iamaguchi Luz¹, Ana Letícia Dias Semtchuk², Célia Maria Gomes Labegalini², Camila Santa Rosa Suhett³, Lourdes Botelho Garcia⁴

RESUMO: *Streptococcus pneumoniae* é um agente freqüente em otites, sinusites, pneumonias, principalmente em crianças e idosos. A droga de escolha para o tratamento de infecções pneumocócicas é a penicilina, porém, com o aumento dos relatos de cepas não susceptíveis a esse antimicrobiano, é importante a introdução de um meio seletivo para a triagem desta bactéria. O objetivo deste estudo é estudar a prevalência de portadores de *S. pneumoniae* não susceptíveis a penicilina entre crianças em idade pré-escolar, introduzindo na metodologia de cultivo um meio contendo base triptose, 5% de sangue de carneiro e penicilina G na concentração de 0,12 µg/ml. Uma amostra da nasofaringe de 65 crianças foi coletada por meio de swab e semeada respectivamente em uma placa de ágar sangue com 4 µg/ml de gentamicina e uma placa de ágar sangue contendo 0,12 µg/ml de penicilina. A porcentagem de isolamento de *S. pneumoniae* foi de 58% (38/65). Das 38 amostras 23 (60%) foram isoladas a partir do meio com penicilina e caracterizadas previamente como amostras não-susceptíveis. Quinze amostras (40%) não apresentaram crescimento no meio proposto e foram caracterizadas previamente como amostras sensíveis a penicilina. Os resultados foram concordantes em 95% (36/38 amostras). O meio proposto apresentou 100% de especificidade e 92% de sensibilidade.

PALAVRAS-CHAVE: Cepas não susceptíveis penicilina, portador sadio, *Streptococcus pneumoniae*.

1 INTRODUÇÃO

Streptococcus pneumoniae é o agente mais freqüente em pneumonias, otites médias, sinusites e meningites em crianças, sendo responsável por elevadas taxas de morbimortalidade nesta população e em adultos acima de 65 anos (MANTESE et al, 2009; MIGOWSKI et al., 2008) Na maioria das vezes, o pneumococo coloniza a superfície da mucosa, conferindo aos indivíduos o estado de portador sadio. Entretanto, a presença de fatores predisponentes do hospedeiro pode contribuir para a invasão de sítios estéreis, causando a infecção (VELASQUEZ et al, 2009; BRICKS & BEREZIN, 2001). A droga de

¹ Mestranda do Programa de Pós Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia da Universidade Estadual de Maringá. Maringá-Paraná. kelly_suzue@hotmail.com

² Acadêmicas do Curso de Bacharelado em Enfermagem pelo Centro Universitário de Maringá CESUMAR. Maringá-Paraná. Voluntárias. celia-labegalini-@hotmail.com

³ Acadêmica do curso de Bacharelado em Biomedicina da Universidade Estadual de Maringá. Participante do Projeto Ensino do Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Maringá. Maringá-Paraná. csrsuhett@hotmail.com

⁴ Orientadora. Professora Doutora da Universidade Estadual de Maringá. lbgarcia@uem.br
Projeto Finaciado pela Fundação Araucária

escolha para o tratamento das doenças pneumocócicas é a penicilina, porém, com o aumento de pneumococos não-susceptíveis a esse antimicrobiano, (MANTESE *et al.*, 2003; JACOBS, 1998; EKDAHL *et al.*, 1997; HANSMAN & BULLEM, 1967) é importante que seja incluído no isolamento primário, um meio seletivo para a triagem dessa bactéria. Rotineiramente, o isolamento de *S. pneumoniae* é realizado em ágar sangue ou em meios seletivos contendo gentamicina. Esses meios são utilizados para isolamento de pneumococos a partir de materiais provenientes de doentes ou de portadores. Com o objetivo de estudar a prevalência de portadores de *S. pneumoniae* não susceptíveis a penicilina entre crianças em idade pré-escolar, introduzimos na metodologia de cultivo um meio contendo base triptose, 5% de sangue de carneiro e penicilina G na concentração de 0,12 µg/ml.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Uma amostra da nasofaringe de 65 crianças foi coletada por meio de swab e semeada respectivamente em uma placa de ágar sangue com 4 µg/ml de gentamicina e uma placa de ágar sangue contendo 0,12 µg/ml de penicilina.

A concentração de penicilina foi estabelecida de acordo com o ponto de corte determinado pelo CLSI (2010) que caracteriza resistência intermediária para penicilina oral.

As colônias isoladas foram identificadas fenotipicamente como *S. pneumoniae* pela presença de alfa-hemólise, sensibilidade a optoquina e bile solubilidade. Um inóculo ajustado em 10⁸ UFC (unidades formadoras de colônias) de pneumococos por mililitro foi preparado e semeado em placas contendo ágar Müeller Hinton (Difco) acrescido 5% de sangue de carneiro para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) da penicilina, determinada por Etest, que consiste em tiras impregnadas com penicilina G em gradiente de concentração variando de 0,002 µg/mL a 32 µg/mL.

As placas foram incubadas em atmosfera de CO₂ a 35-37°C por 20-24 horas. A leitura da CIM foi considerada a concentração da fita que intersectou com a borda da elipse de inibição do crescimento bacteriano. A amostra padrão *S. pneumoniae* da *American Type Culture Collection* (ATCC 49619) foi utilizada, em paralelo, como controle dos testes. Amostras que apresentaram CIM ≤ 0,06 µg/mL foram consideradas sensíveis. Concentrações variando de 0,12 µg/mL a 1,0 µg/mL indicaram resistência intermediária e CIM ≥ 2,0 µg/mL caracterizaram resistência plena à penicilina.

Este projeto foi encaminhado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá sob o parecer de número 563/2010, CAAE nº 03000093000-10.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem de isolamento de *S. pneumoniae* foi de 58% (38/65). Das 38 amostras 23 (60%) foram isoladas a partir do meio com penicilina e caracterizadas previamente como amostras não-susceptíveis. Quinze amostras (40%) não apresentaram crescimento no meio proposto e foram caracterizadas previamente como amostras sensíveis a penicilina. Os resultados foram concordantes em 95% (36/38 amostras). Todas as amostras isoladas no meio com penicilina confirmaram a não-susceptibilidade quando avaliadas pelo Etest, apresentando CIM de 0,19 a 3,0 µg/ml. Em relação às amostras isoladas apenas no meio com gentamicina, duas demonstraram pelo Etest perfil de não-susceptibilidade (CIM 0,19µg/ml e 0,38 µg/ml).

4 CONCLUSÃO

O meio proposto apresentou 100% de especificidade e 92% de sensibilidade. O meio com penicilina foi capaz de fazer a triagem de cepas não-suscetíveis à penicilina de crianças portadoras de *S. pneumoniae*. O que o torna uma alternativa a ser empregada na rotina laboratorial, proporcionando uma redução no tempo de identificação de sensibilidade, otimizando o tratamento.

REFERÊNCIAS

BRICKS, L.F; BEREZIN, E. **Colonização das vias aéreas pelo *S. pneumoniae*. IV** Manual de Otorrinolaringologia Pediátrica da IAPO, 2001.

CLSI. 2010. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement. Approved standard M100-S20. CLSI. Wayne, PA.

EKDAHL, K. *et al.* **Duration of nasopharyngeal carriage of penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae*.** Experiences from the South Swedish pneumococcal intervention project. Clin Infect Dis, 25: 1113-1117, 1997.

HANSMAN, D.; BULLEM, M.M. **A resistant pneumococcus.** Lancet, 2: 264-265, 1967.

JACOBS, M. R. **Antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in acute otitis media: overview and update.** Pediatr Infect Dis J, 17(10): 947-952, 1998.

MANTESE, Orlando C. *et al.* Prevalência de sorotipos e resistência antimicrobiana de cepas invasivas do *Streptococcus pneumoniae*. J. Pediatr. (Rio J.), vol.79, n.6, pp. 537-542, 2003.

MANTESE, O. C., *et al.* Prevalence of serotypes and antimicrobial resistance of invasive strains pneumococcus in children: analysis of 9 years. J. Pediatr (Rio J), v.85, n.6, p. 495-502, 2009.

MIGOWSKI, E., *et al.* **Doença Pneumocócica Invasiva (DIP): Importância e impacto na saúde.** Sociedade Brasileira de Imunizações. Ano II, n.12, abril, 2008.

VELASQUEZ, Patrícia A. G. *et al.* Alta prevalência de crianças portadoras de *Streptococcus pneumoniae* resistentes à penicilina em creches públicas. J. Pediatr. (Rio J.), vol.85, n.6, pp. 516-522, 2009.