

VARIAÇÃO DOS RESULTADOS DE SENSIBILIDADE NO ANTI-BIOGRAMA REALIZADO PELO MÉTODO DA DIFUSÃO EM ÁGAR (Kirby-Bauer) EM FUNÇÃO DOS RADICAIS DOS ANTIBIÓTICOS. *

CLEOMENES REIS **

RESUMO

Pretendeu-se verificar a atividade dos antibióticos em função dos radicais nos testes de sensibilidade realizados pelo método da difusão em agar, pelos discos.

Compararam-se resultados obtidos com antibiogramas realizados com discos preparados com sal quimicamente puro de três antibióticos com a forma "comercial" de administração, com radicais diferentes: tetraciclina (n — pirrolidino metil, lauril-sulfato e cloridrato), eritromicina, estolato e estearato) e cloranfenicol (succinato e palmitato), sendo as soluções preparadas de acordo com as prescrições de Grove e Randall.

O inóculo era padronizado. Utilizaram-se germes Gram positivos e Gram negativos para a experiência.

Os resultados demonstraram interferência apreciável, principalmente para determinados radicais na sensibilidade de uma mesma droga, atribuída ao índice de difusão em agar para os diferentes sais.

INTRODUÇÃO

O valor do antibiograma, principalmente do teste de sensibilidade aos antibióticos e quimioterápicos pelo método da difusão em ágar (Kirby-Bauer, Delft, Ericson, Miale, e outros) tem sido confirmado em cuidadosos trabalhos de análise (6).

Os resultados do antibiograma, contudo, não podem ser considerados de forma absoluta, isto porque estão ausentes "in vitro" fatores que podem influenciar favorável ou desfavoravelmente, presentes nos humores e líquidos teciduais ("in vivo"). (5)

Desde que se observe com rigor a técnica escolhida em laboratório, o método é extremamente útil para as informações mais rápidas ao clínico, que deve se orientar pelo resultado do antibiograma e ainda pelas proprie-

* Trabalho realizado no Instituto de Patologia Tropical da Universidade Federal de Goiás.
** Prof. Titular do Dept. de Microbiologia, IPT-UFGo.

dades farmaco-dinâmicas das drogas para a escolha do antibiótico ou quimioterápico a ser administrado.

Laboratórios de produtos químico-farmacêuticos preparam seus próprios discos de antibióticos sob a forma com que é comercializada e preparada para a administração.

Também laboratórios de rotina bacteriológica usam preparar seus próprios discos, com soluções de produtos formulados para a administração "in vivo".

A forma com que estas se apresentam tem a intenção de potencializar a ação "in vivo" ou permitir a melhor absorção, a fim de que níveis sanguíneos mais elevados sejam conseguidos na corrente sanguínea.

Esta experiência pretendeu a observação da atuação destes radicais "in vitro", utilizando discos de mesmos antibióticos, sob a forma de sal puro e de diferentes radicais.

MATERIAL E MÉTODO

Inóculo

Foram utilizadas 40 bactérias, sendo 21 Gram positivas e 19 Gram negativas para os testes de sensibilidade.

O inóculo foi preparado com os microorganismos transferidos com agulha de platina para os tubos contendo caldo tripticase soja. Esperou-se pelo crescimento de 24 horas.

Foram depois transferidos com pipetas estéreis para tubos contendo salina fisiológica, cerca de 10 ml., até se obter a densidade semelhante a do tubo n.º 4 da Escala de McFarland.

0,5 ml., da suspensão era distribuído de maneira uniforme para as placas de Petri (20 x 100mm) contendo DST agar base (Oxoid) com sangue desfibrinado de carneiro.

Bactérias Gram positivas: 12 amostras de *Staphylococcus aureus*; 2 amostras de *Staphylococcus epidermidis*; 6 amostras de *Streptococcus pyogenes*; 1 amostra de *Corynebacterium*.

Bactérias Gram negativas: 2 amostras de *Pseudomonas aeruginosa*; 6 amostras de *Escherichia coli* (enteropatogênica); 6 amostras de *Proteus*, sp.; 2 amostras de *Shigella flexnerii*; 1 amostra de *Aerobacter* (*Klebsiella*) aerogenes.

Antibióticos: Tetraciclina — Sal puro; cloridrato de, (Acromicina, Lederle); N-pirrolidino-metil (Tetrin, Bristol Labor); Lauril-sulfato de, (Lauraciclina, Hosbon).

Eritromicina: Sal puro; Estolato de, (Ilosone, Lilly); Estearato de, (Pantomicina, Abbott).

Clorafenicol: Sal puro; Succinato de, (Quemicetina, Carlo Erba); Palminto de, (Cloromicetina líquida, Parke Davis).

Preparados em suspensões conforme as prescrições de Grove e Randall, (3) sendo as quatro formas de tetraciclina dissolvidas em HCL a 0,01 N para sol. de 1 mg/ml, as três de eritromicina

TABELA I

Sensibilidade aos antibióticos testados pelas amostras utilizadas — número de amostras sensíveis.

Bacterias	N.º Amostras	Tetraciclina				Cloranfenicol			Eritromicina		
		T. bas.	Pirrl.	laur.	Clor.	S.P	Succ.	Palm.	S.P	Estol.	Estear
GRAM +											
Staph. Aureus	12	8	8	7	7	9	9	5	8	8	6
Staph. Epiderm.	2	1	1	1	2	2	2	1	2	2	2
Coryneb.	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1
Strept. faecc.	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Strept. agalat.	1	1	1	0	0				1	1	1
Strept. viridans	3	3	2	1	1	2	2	1	2	2	2
Strep. salivar	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
TOTAL GRAM +	12	16	14	11	12	17	17	7	14	13	12
GRAM —											
Salm. typhosa	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Salm. gallinar	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Shig. flexn.	2	2	1	1	1	1	1	0	2	1	1
Klebsiella	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1
E. coli	5	5	3	3	4	3	4	3	3	1	2
Prot. mirab	2	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1
Prot. vulg.	4	1	2	1	1	3	3	2	2	2	2
Pseud. aerug	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
TOTAL GRAM —	19	10	6	5	8	12	13	6	8	5	7
TOTAL GERAL	40	26	20	16	20	29	30	13	22	18	19

dissolvidas em álcool, para dar a concentração de 10.000 ug/ml. e as três de cloranfenicol dissolvidas em álcool e depois em tampão fosfato pH 6.0 para obter 1.000 ug/ml.

Os discos de coloração diferente para cada apresentação da mesma droga (2), continham as letras iniciais dos antibióticos testados T.E.C. foram preparados com papel de filtro Whatman n.º 1, para conter a seguinte concentração por disco: tetraciclina 30 ug, eritromicina 15 ug, cloranfenicol 30 ug, sendo que o diâmetro dos discos era de 8 mm.

Após a rápida secagem do inóculo (1), 1 hora a 37°C em estufa, eram colocados os discos, conservando a distância de 3cms. entre eles e 2 cms. do bordo da placa. Foi utilizada uma placa para cada grupo de antibióticos. As leituras foram realizadas após 24 horas de incubação em estufa a 37.ºC. Consideramos na leitura os resultados de sensibilidade quando havia halo de inibição, e resistência quando o halo de inibição era ausente (4).

RESULTADOS

Os resultados observados são os que se acham resumidos na Tabela I.

A tetraciclina básica, sal puro de tetraciclina apresentou, para as bactérias Gram positivas índices de sensibilidade mais satisfatórios que as demais formas de tetraciclina.

Para a eritromicina, praticamente, não houve diferenças mui-

to grandes entre o sal básico e as duas formas de apresentação.

No caso do cloranfenicol, o sal puro e sob a forma de succinato apresentaram índices de sensibilidade muito grandes e em discrepância com o resultado obtido para o cloranfenicol sob a forma de palmitato, que não conseguiu inibir o crescimento de muitas bactérias Gram positivas e Gram negativas.

COMENTÁRIOS

Para se efetuar o antibiograma utilizando discos preparados pelo laboratorista ou pesquisador, os antibióticos devem ser utilizados sob a forma de sal quimicamente puro (HCL N/E).

Os componentes químicos participantes da forma de apresentação do antibiótico podem acelerar a absorção intestinal da droga, evitar ação de inibição das proteínas plasmáticas sobre a droga, etc., todavia, muitos deles prejudicam a difusão do antibiótico em ágar e comprometem o resultado do antibiograma.

Para evitar o comprometimento do resultado o antibiótico deveria ser suspenso em outra substância que a prescrita por Grove e Randall, no preparo das diluições, e talvez, inclusive, outra deveria ser a concentração da droga por disco.

Estas falhas explicam, possivelmente, a ineficiência de determinados discos que Laboratórios lançam comercialmente ou mesmo gratuitamente e depois procuram recolher da circulação.

SUMMARY

VARIATION IN THE RESULTS OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TESTS BY THE AGAR DIFFUSION DISC METHOD IN TERMS OF ANTIBIOTIC GROUPS

The activity of antibiotics in terms of their groups was estimated in sensitivity tests with the agar diffusion disc method.

The results obtained with antibiograms in which chemically pure salts of three antibiotics were employed, were compared with the "commercial" form of administration bearing different groups: Tetracycline (n-pyrrolidine methyl, lauryl-sulfate and hydrochlorate); erythromycin (stolate and stearate); chloramphenicol (succinate and palmitate). Solutions were prepared according to Grove and Randall.

The inoculum was standardized. Gram-positive and gram-negative organisms were used in the experiments.

The results showed considerable interference of some groups in the sensitivity tests attributable to variations in diffusibility of the different salts.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CRUICKSHANK, R. — Microbiologia Médica. Tradução Maria Serpa dos Santos. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 934-950, 1968.
2. ERICSON, H. TUNNEVAL, G., & WICKMEN. The paper disc method for determination of bacterial sensitivity to antibiotics. Relationship between the diameter of the zone of inhibition and the minimum inhibitory concentration. Scand. J. Clin & Lab. Invest. 12:414-422, 1960.
3. FAVA NETTO, C. — Antibiograma. In Antibióticos — Carlos da Silva Lacaz. Fundo Editorial Procienc. S. Paulo, 195-211, 1965.
4. GOSLINGS, W.R.O. — Determinação de sensibilidade dos germes bacterianos aos antibióticos, segundo o método de difusão sobre placa de agar sangue (método de Delft.) Gaz. Med. Port. 9:297, 1956.
5. REIS, C. — Guia para o estudo dos antibióticos. Oriente. Goiânia, 40, 1971.
6. ROCHA, H., ZULIANI, M.E. & TRABULSI, L.R. — Revisão: Antibiograma. Rev. Microbiol. 3: 51-60, 1972.