

---

# Análise da eficácia entre as cefalosporinas da 1ª e 4ª geração em cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

*Analysis of the efficacy enters the cephalosporins of 1st and 4th generation in strains of Pseudomonas aeruginosa*

Gabrielle Guimarães Rodrigues<sup>1</sup>, Ana Paula Miranda Barros<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Curso de Biomedicina da Universidade Paulista, Manaus-AM, Brasil..

---

## Resumo

**Objetivo** – Verificar a resistência antibacteriana em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* das Unidades de Tratamento Intensivo (UTI's) do Hospital 28 de agosto, Hospital Universitário Francisca Mendes e Hospital e Pronto Socorro João Lúcio Pereira Machado. **Métodos** – A partir de 12 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foi realizado o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM), para verificar a suscetibilidade as cefalosporinas, de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI*. **Resultados** – Dentre os 12 isolados, 8 (67%) apresentaram resistência na concentração superior a 256 µg/mL na cefalosporina da 1ª geração (cefalotina); quanto a cefalosporina da 4ª geração (cefepima), cerca de 4 (33%) das amostras isoladas foram sensíveis ao antibiótico. **Conclusão** – Elevadas amostras foram resistentes a cefalotina, enquanto na cefepima, mostraram sensibilidade.

**Descritores:** Pseudomonas, Cefalosporinas; Cefalotina

## Abstract

**Objective** – To verify the antibacterial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains of the Intensive Care Units (ICUs) of Hospital 28 de agosto, Hospital Universitário Francisca Mendes and Hospital e Pronto Socorro João Lúcio Pereira Machado. **Methods** – From 12 strains of *Pseudomonas aeruginosa*, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test was performed to verify the susceptibility of cephalosporins, according to the Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. **Results** – Among the 12 isolates, 8 (67%) presented resistance in the concentration above 256 µg/mL in cephalosporin of the first generation (cephalothin); for cephalosporin of the 4<sup>th</sup> generation (cefepime), about 4 (33%) of the isolated samples were sensitive to the antibiotic, at the concentration of 4 µg/mL. **Conclusion** – High samples were resistant to cephalothin, whereas in cefepime, they showed sensitivity.

**Descriptors:** Pseudomonas; Cephalosporins; Cephalothin

---

## Introdução

Dentre os microrganismos multirresistentes regularmente isolados em ambiente hospitalar, destaca-se *Pseudomonas aeruginosa*, presente designadamente em Unidades de Tratamento Intensivo (UTI), a qual é relacionada ao fenótipo MDR (do inglês Multi-drug-resistance – resistência a múltiplas drogas) e circunstancialmente, ao fenótipo PDR (do inglês Pan-drug-resistance – resistência a todas drogas)<sup>1</sup>. A *P. aeruginosa* é um dos relevantes agentes de infecção nosocomial em hospitais, onde diversos estudos têm ligado sua presença a uma disseminação clonal da espécie. A importância clínica da infecção por *P. aeruginosa* caracteriza-se pela expressão diversificada à resistência a antibacterianos associada a uma séria erradicação da doença, consequentemente com altos índices de morbidade e mortalidade. Esse microrganismo pode apresentar resistência natural ou adquirida a desordenado número de antibióticos aplicados na prática clínica<sup>2</sup>.

Para um antibiótico tornar-se eficiente, ele deve alcançar seu alvo e obstinar-se a ele, interferindo com sua função. Os antibióticos atingem tanto as bactérias patogênicas como os microrganismos da microbiota normal, a princípio, os antibióticos podem seletar cepas resistentes desde que sua concentração local exceda a Concentração Inibitória Mínima (CIM) para a população

bacteriana sensível, abaixo da CIM para o clone resistente. A *P. aeruginosa* pode causar infecções nosocomiais graves, com elevada letalidade. Há relatos da redução de suscetibilidade, o que a torna um grande problema terapêutico.

A cefalotina (1ª geração) e a cefepima (4ª geração) são cefalosporinas utilizadas como tratamento empírico em pacientes seriamente doentes, no qual a administração do antibiótico eficaz é indispensável. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi analisar a resistência das Cefalosporinas de 1ª e 4ª geração e comparar a eficácia em cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

## Métodos

A pesquisa utilizou uma abordagem indutiva com experimentos empíricos controlados laboratorialmente e foi realizada no Laboratório Multidisciplinar da Universidade Paulista – UNIP.

No campo técnico, a análise das cefalosporinas foi realizada a partir de cepas isoladas de *Pseudomonas aeruginosa* providas da Coleção Microbiológica do Instituto Leônidas e Maria Deane – Fundação Oswaldo Cruz – Amazônia (FIOCRUZ-AMAZÔNIA), nas quais foram coletadas dos hospitais: Hospital e Pronto Socorro 28 de agosto (HPS28), Hospital Universitário Francisca Mendes (HUFM) e Hospital e Pronto Socorro João Lúcio

Pereira Machado (HPSJL). Obtiveram crescimento bacteriano característico de *P. aeruginosa*, como a presença de colônias azul-esverdeada observada sobre UV, o odor frutado, análises bioquímicas que confirmaram a incapacidade de fermentar a lactose, uma reação positiva da oxidase e a morfologia através da técnica de coloração de Gram, que possibilitou a visualização de bacilos avermelhados (rosados), além disso, houve fornecimento de documentos informando os dados sobre a suscetibilidade dos antibióticos. Foram analisados os resultados do Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana (TSA) fornecidos pela FIOCRUZ e selecionadas as cepas bacterianas resistentes aos  $\beta$ -lactâmicos (Cefalosporinas).

As cepas foram reativadas através de uma alíquota do meio definitivo e transferida para o caldo LB (Miller "Luria-Bertani) contendo 3 mL. As diluições das amostras reativadas consistiram em transferir 100  $\mu$ L do caldo LB, para um novo caldo do mesmo, contendo 3mL, ajustou-se com a Escala 0.5 de Mac Farland, que equivale a concentração de  $1 \times 10^8$  UFC/mL verificando a compatibilidade de turvação, conforme as orientações do *Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI*.

De acordo com as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI*, o perfil de suscetibilidade das amostras foi determinado por meio de teste de microdiluição em ágar Müeller-Hinton (MH), com os antimicrobianos: cefalotina (256  $\mu$ g) e cefepima (256  $\mu$ g), usou-se 6 microplacas.

Foi utilizado como controle a última linhagem, sendo, controle negativo, positivo, MH e antibiótico e MH e Resazurina (corante indicador de oxirredução em ensaios de viabilidade celular para células bacterianas).

## Resultados

Foram analisadas 12 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, provindas da Coleção Microbiológica do Instituto Leônidas e Maria Deane – Fundação Oswaldo Cruz – Amazônia (FIOCRUZ-AMAZÔNIA).

A Concentração Inibitória Mínima foi determinada pelo emprego da Resazurina. A interpretação consistiu na mudança da cor do corante, ou seja, o que permaneceu roxo, foi considerado a ausência de bactérias viáveis. Qualquer evidência na mudança da coloração considerou crescimento bacteriano. A análise foi confirmada através dos controles.

As 12 amostras resistentes as Cefalosporinas foram submetidas ao teste de CIM, onde foram comparadas a relação da resistência entre cefalotina (Cefalosporina de 1<sup>o</sup> geração) e a cefepima (Cefalosporina de 4<sup>o</sup> geração), a tabela 1, mostra os valores de CIM para Cefalotina e Cefepima.

Posteriormente, a CIM de cada um dos isolados resistentes a cefalotina foi determinada as seguintes concentrações de antimicrobiano: 256, 128, 64, 32, 16, 8 e 4  $\mu$ g/mL. A cefalotina apresentou CIM superior a 256  $\mu$ g/mL para a maioria dos isolados (67%), o que demonstra um alto nível de resistência a cefalotina nas amostras estudadas. Quanto a cefepima, observou-se que os isolados apresentaram 33% de sensibilidade e

resistência em 67% à cefalosporina da 4<sup>a</sup> geração.

## Discussão

Dentre as 12 amostras estudadas, 33% apresentaram CIM de 256  $\mu$ g/mL para a cefalotina e 67% obtiveram CIM superior a 256  $\mu$ g/mL. O gráfico 1 mostra a distribuição da CIM dos isolados de *P. aeruginosa* resistentes a cefalotina pelo teste de microdiluição padronizado pelo CLSI.

Neste estudo foi constatado que isolados de *Pseudomonas aeruginosa* apresentaram resistência à cefalotina (cefalosporina 1<sup>a</sup> geração), prevalência também observada em isolados de bactérias gram-negativas por Nascimento et al. (2011)<sup>3</sup>; fato preocupante, pois, comprovam que a cefalosporina da 1<sup>a</sup> geração, após anos, ainda apresenta baixa atividade antibacteriana contra bactérias gram-negativas, o que gera um grande problema para o tratamento de infecções graves causadas por cepas suscetíveis desse grupo (gram-negativos).

Do total de 12 amostras de *P. aeruginosa*, 33% foram sensíveis a cefepima e 67% mostraram resistência a cefalosporina da 4<sup>a</sup> geração. O gráfico 2 demonstra a distribuição a CIM das 12 amostras analisadas, sensíveis e resistentes, conforme a padronização do teste de microdiluição do *Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI*.

Esses dados são semelhantes aos resultados encontrados por Figueiredo (2007)<sup>4</sup>, que detectou sensibilidade a cefepima de 48,6% em cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. No estudo realizado por Akhabue (2011)<sup>5</sup>, encontrou apenas 8,4% de resistência à cefepima em isolados de *Pseudomonas aeruginosa*. Esse resultado é significativo, uma vez que essa cefalosporina de 4<sup>a</sup> geração é utilizada para o tratamento de infecções de bactérias gram-negativas.

Sendo assim, a cefepima pode ser utilizada como uma opção de tratamento contra as infecções causadas por esses isolados.

## Conclusão

A grande preocupação com o surgimento de bactérias multirresistentes, gerou a necessidade de buscar novos compostos com atividade antibacteriana, com a fundamental importância de determinar a sensibilidade, no qual foi utilizado o teste de microdiluição: Concentração Inibitória Mínima (CIM).

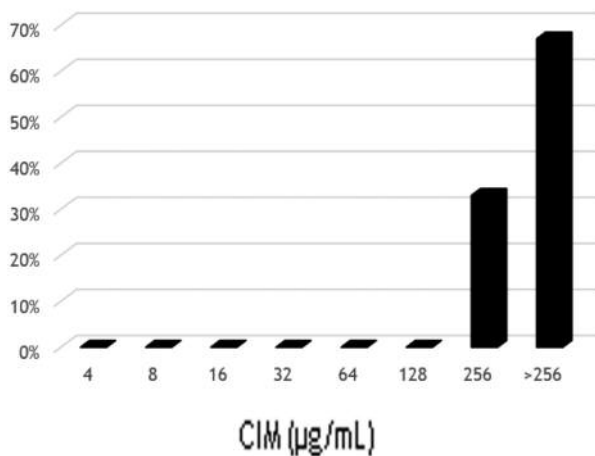
Posteriormente, com isso, devido ao alto nível de resistência dos isolados de *Pseudomonas* a cefalotina, observou-se que essa cefalosporina da 1<sup>a</sup> geração necessita de uma concentração superior a 256  $\mu$ g/mL, desta forma, não é indicada para o tratamento de indivíduos com sistema imunológico comprometido, infecção no aparelho respiratório, sistema urinário, quemaduras, bacteremias, doenças causadas pelo patógeno oportunista *Pseudomonas aeruginosa*.

A cefepima (4<sup>a</sup> geração), quando comparada a cefalotina, apresentou maior eficácia, pois a *P. aeruginosa* obteve sensibilidade ao antimicrobiano, variando das concentrações de 4 $\mu$ g/mL à 256 4 $\mu$ g/mL.

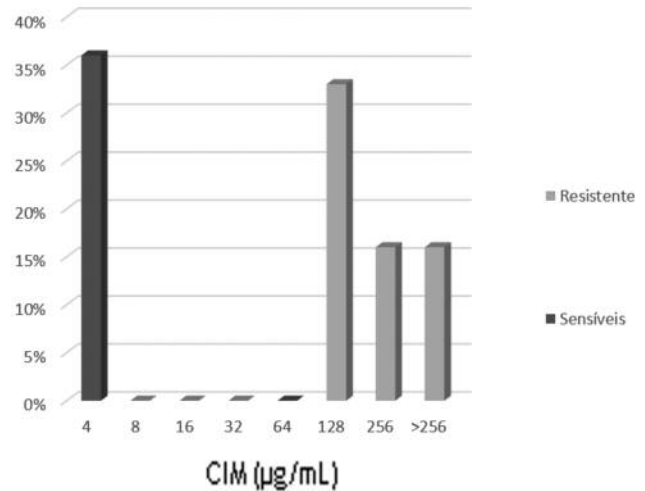
**Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima para Cefalosporinas (1ª e 4ª geração) em isolados de *P. aeruginosa***

Número de Amostra	Concentração Inibitória Mínima (CIM) (µg/mL)	
	Cefalotina	Cefepima
PA	256 µg/mL	4 µg/mL
PA12	256 µg/mL	4 µg/mL
PA17	256 µg/mL	4 µg/mL
PA20	256 µg/mL	4 µg/mL
PA35	> 256 µg/mL	256 µg/mL
PA36	> 256 µg/mL	128 µg/mL
PA39	> 256 µg/mL	128 µg/mL
PA42	> 256 µg/mL	128 µg/mL
PA50	> 256 µg/mL	128 µg/mL
PA51	> 256 µg/mL	> 256 µg/mL
PA54	> 256 µg/mL	256 µg/mL
PA56	> 256 µg/mL	> 256 µg/mL

\* A tabela mostra acima a Concentração Inibitória Mínima de sensibilidade ou resistência aos antimicrobianos: Cefalotina e Cefepima



**Gráfico 1.** Perfil de suscetibilidade a cefalotina em isolados de *Pseudomonas aeruginosa*. As porcentagens representam a taxa de resistência a cefalotina



**Gráfico 2.** Perfil de suscetibilidade a cefepima, em cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. As porcentagens descrevem as taxas de sensibilidade e resistência a cefepima

Tendo em vista essa comparação, a cefepima, cefalosporina da 4ª geração, é a que possuiu maior eficácia, sendo a melhor indicada para infecções causadas pela bactéria gram-negativa, *Pseudomonas aeruginosa*.

## Referências

- Dini VSQ. Análise da resistência antimicrobiana em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em unidades de tratamento intensivo em Manaus [dissertação de mestrado]. Manaus-AM: Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia; 2016.
- Neves PR, Mamizuka EM, Levy CE, Lincopan N. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. J Bras Patol Med Lab. 2011;47(4):409–20.
- Rocha GAN, Silva RF, Pereira NC, Sousa LB. Principais patógenos e susceptibilidade *in vitro* antimicrobiana em ceratites bacterianas: revisão de cinco anos, 2005 a 2009. Arq Bras Oftalmol. 2011;74(1):28-32.
- Figueiredo EAP, Ramos H, Maciel MAV, Vilar M do CM, Loureiro NG, Pereira RG. *Pseudomonas aeruginosa*: frequência de

resistência a múltiplos fármacos e resistência cruzada entre antimicrobianos no Recife-PE. Rev Bras Ter Intens. 2007;19(4):421-7.  
5. Akhabue E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Lautenbach E. Cefepime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Emerg Infect Dis. 2011;17(6):1037-43.

## Endereço para correspondência:

Gabrielle Rodrigues  
Rua Medelim, 8 – Campos Elíseos. Planalto  
Manaus-AM, CEP69045-470  
Brasil

E-mail: gab.guimaraes@outlook.com

Recebido em 27 de junho de 2018.  
Aceito em 4 de junho de 2019