



PERFIL DE SENSIBILIDADE À ESTREPTOMICINA DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *Mycobacterium tuberculosis*

Giovana Ferreira Costacurta (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Hayalla Corrêa de Carvalho, Tamires Leite Valverde, Isabella Letícia Esteves Barros, Katiany Rizzieri Caleffi-Ferracioli, Vera Lucia Dias Siqueira, Rosilene Fressatti Cardoso, Regiane Bertin de Lima Scodro (Orientadora), e-mail: regianebertin@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina / Maringá, PR.

Microbiologia – Microbiologia Aplicada

Palavras-chave: Tuberculose, estreptomicina, CIM.

Resumo:

A tuberculose é uma doença infecto-contagiosa conhecida há séculos, que até os dias de hoje é considerada um importante problema de saúde pública, particularmente nos países em desenvolvimento. Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de sensibilidade à estreptomicina (SM) de isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis*. O fármaco foi submetido ao ensaio *in vitro* para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) capaz de inibir a multiplicação bacilar em *M. tuberculosis* H₃₇Rv e nos isolados clínicos, utilizando o método *resazurin microtiter assay plate*. Dos 30 isolados testados 18 apresentaram CIM de 0,250 µg/ml e nove com CIM de 0,500 µg/ml e três com CIM de 0,125 µg/ml. Todos os isolados foram considerados sensíveis à SM, estando de acordo com os dados da literatura, que relatam a frequência de resistência em um bacilo a cada 10⁵⁻⁶ bacilos.

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença infecto-contagiosa e um importante problema de saúde pública no mundo, principalmente em países em desenvolvimento (MA et al., 2010). As principais medidas para o controle da TB são o diagnóstico precoce e o tratamento realizado corretamente. No Brasil, esquemas terapêuticos padronizados e o fornecimento gratuito de





medicamentos compõem o cenário adequado para a administração e o controle do tratamento, no entanto, ainda existem três grandes desafios que até hoje impactam as reconhecidas dificuldades de controle da tuberculose: a pandemia de HIV/AIDS, a tuberculose multi-droga-resistente (TBMDR), e a TB extensivamente resistente (XDR-TB) (DALCOMO, 2012). O tratamento da TB tem como base o comportamento do metabolismo do bacilo e sua localização na lesão tuberculosa, motivos que justificam a utilização de fármaco com capacidade bactericida precoce, com o objetivo de reduzir o surgimento de resistência aos medicamentos, através da redução da população bacilar (DALCOMO et al., 2007). A estreptomicina (SM) é um antibiótico aminoglicosídeo bactericida que age inibindo a tradução do RNA mensageiro (mRNA), afetando a capacidade transducional (ROSSETTI et al., 2002). A frequência de bacilos resistente a SM é considerada baixa, sendo a proporção de um mutante resistente/ 10^{5-6} bacilos. É o fármaco utilizado em caso de falha terapêutica dos fármacos de primeira escolha (isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol) (SOUZA et al., 2005). Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de sensibilidade à (SM) de isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis*.

Materiais e métodos

Foram testados 30 isolados clínicos, de *Mycobacterium tuberculosis* provenientes de pacientes da tríplex fronteira Brasil/Paraguai/Argentina. Os isolados clínicos de *M. tuberculosis* e a cepa padrão H₃₇Rv foram submetidos ao ensaio *in vitro* para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), pelo método *resazurin microtiter assay plate* (REMA).

O fármaco utilizado foi preparado na concentração de 500 µg/ml, sendo diluído em meio 7H9, e aplicado 100 µl na placa de 96 poços, onde sua concentração caiu para 2 µg/ml, e, a partir desse poço, foi realizada uma diluição seriada do fármaco. Para cada teste foi realizado controle positivo e negativo. As colunas da periferia da placa foram preenchidas com água para evitar evaporação. Após, foram adicionados 100 µl dos isolados, já padronizados, da coluna 2 a 10. Cada isolado clínico foi realizado em duplicata. A placa foi coberta e incubada a 37 °C sob uma atmosfera normal. Após sete dias de incubação, foram adicionados 30 µl de solução de resazurina em cada poço e a placa foi incubada por mais 24 horas. Uma mudança de cor azul para rosa indicou o crescimento de bactérias, e a CIM foi definida como a concentração mais baixa de droga que evitou esta mudança de cor.





Resultados e Discussão

Todos os 30 isolados utilizados foram sensíveis à SM. Suas CIM variaram entre 0,125 µg/ml a 0,500 µg/ml. Do total de isolados, 18 apresentaram CIM de 0,250 µg/ml e nove com CIM de 0,500 µg/ml e três com CIM de 0,125 µg/ml. A CIM para a cepa de referência H₃₇Rv variou entre 0,500 µg/ml e 0,250 µg/ml, considerado dentro dos padrões para SM. Na tabela abaixo se encontram os isolados testados, a cepa padrão e a suas CIM.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM) e perfil de sensibilidade à estreptomicina dos isolados clínicos e cepa padrão de *Mycobacterium tuberculosis*.

Isolados clínicos	CIM (µg/ml)	Perfil de sensibilidade
F01	0,250	S
F02	0,250	S
F04	0,250	S
F05	0,250	S
F06	0,250	S
F08	0,250	S
F10	0,250	S
F12	0,250	S
F14	0,250	S
F19	0,500	S
F20	0,500	S
F21	0,250	S
F22	0,500	S
F23	0,500	S
F25	0,125	S
F26	0,250	S
F29	0,125	S
F32	0,250	S
F33	0,500	S
F35	0,250	S
F36	0,250	S
F38	0,250	S
F42	0,250	S
F44	0,500	S
F45	0,250	S
F47	0,500	S
F48	0,500	S
F51	0,250	S
F52	0,500	S
F56	0,500	S
H ₃₇ Rv	0,500	S





Conclusões

A tuberculose é uma doença grave, porém curável. Se o esquema medicamentoso for adequado e seguido corretamente pelo paciente, praticamente 100 % dos doentes poderão ser curados. Os resultados obtidos neste trabalho condizem com os achados literários, onde a frequência de bacilos resistentes a SM é baixa, como visto, todos os 30 isolados testados apresentaram sensibilidade a SM. Por esse motivo, o tratamento com a SM gera uma resposta positiva dos pacientes, visto que, em sua maioria, predomina a sensibilidade bacilar a SM.

Agradecimentos

CNPq, LACEN-PR, Laboratório de Bacteriologia Médica - UEM

Referências

DALCOMO, M. P.; ANDRADE, M. K.; PICON, P. D. Tuberculose multirresistente no Brasil: histórico e medidas de controle. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 41, p. 34-42, 2007.

DALCOMO, M. P. Tratamento da tuberculose Sensível e Resistente. **Revista Pulmão**, Rio de Janeiro v. 21, p. 22-29, 2012.

MA, Z. et al. Global tuberculosis drug development pipeline: the need and the reality. **Revista Lancet**, v. 375, p. 2100-2109, 2010.

ROSSETTI, M. L. R.; VALIM, A. R. M.; SILVA, M. S. N.; RODRIGUES, V. S. Tuberculose resistente: revisão molecular. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, no4, 2002.

SOUZA, V. N. S.; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate a tuberculose: passado, presente e futuro. **Revista Química Nova**, São Paulo, v.28, no4, 2005.

