

Neisseria gonorrhoeae: resistência cromossômica à tetraciclina em São Paulo, Brasil*

Neisseria gonorrhoeae: chromosomal resistance to tetracycline in São Paulo, Brazil*

Walter Belda Junior¹Luiz Jorge Fagundes²Luis Fernando de Góes Siqueira³

Resumo: FUNDAMENTO: A utilização de antimicrobianos no tratamento da gonorréia iniciou-se em 1930 com as sulfonamidas. No decorrer dos anos outras drogas passaram a ser utilizadas, entre elas a tetraciclina. Embora eficaz no início, esta droga, ao longo do tempo, passou a não mais apresentar o resultado terapêutico esperado em virtude do aparecimento de quadros de resistência cromossômica e plasmidial em diversos países. Como a tetraciclina ainda continua sendo indicada, isoladamente ou associada a outras drogas antimicrobianas, para o tratamento da gonorréia no Brasil, tornou-se necessária a realização de um estudo de sensibilidade do gonococo à mesma, no intuito de se estimar a real dimensão da resistência do gonococo à tetraciclina.

OBJETIVO: Avaliar a incidência de resistência cromossômica das cepas de *Neisseria gonorrhoeae* à tetraciclina. MÉTODO: Estudo da concentração inibitória mínima pelo método de diluição em ágar.

RESULTADOS: A resistência cromossômica à tetraciclina detectada foi de 40,3% entre todas as cepas estudadas, segundo os critérios estabelecidos pelo Center for Diseases Control.

CONCLUSÕES: Desaconselha-se definitivamente o uso isolado ou associado da tetraciclina e derivados, no tratamento da gonorréia no Brasil, no atual momento epidemiológico.

Palavras-chave: *Neisseria gonorrhoeae*; Resistência à tetraciclina; Testes de sensibilidade microbiana.

Abstract: BACKGROUND: The use of antimicrobials in the treatment of gonorrhoea started in 1930 with sulphonomides. Subsequently other drugs, such as tetracycline and its derivatives, were indicated for treating gonorrhoea. Therapeutic response to these drugs has tended to decline due to chromosomal and plasmidic resistance. However, tetracycline as a monotherapy or in association with other drugs is still prescribed for treating gonorrhoea in Brazil. This justifies the need for a critical analysis in order to evaluate the sensitivity of gonococcus to this drug.

OBJECTIVE: Evaluate the real incidence of chromosomal resistance of *Neisseria gonorrhoeae* strains to tetracycline in our environment.

METHOD: Analysis of the minimal inhibitory concentration in agar dilution.

RESULTS: The chromosomal resistance to tetracycline was detected in 40.3% of all analyzed strains.

CONCLUSIONS: This finding condemns the use of tetracycline as a mono or combined therapy for the treatment of gonorrhoea in our environment.

Keywords: *Neisseria gonorrhoeae*; Tetracycline resistance; Microbial sensitivity tests.

INTRODUÇÃO

A gonorréia figura como um dos mais antigos estados mórbidos da nossa civilização. Secreções uretrais de origem venérea, supostamente gonocócicas, já eram relatadas pelos chineses durante o Império de Huang Ti, em 2637 aC. Com o aparecimento das sulfonamidas na década de 1930, uma nova era terapêutica instala-se com sua indicação para o tratamento da

gonorréia,¹ porém, apesar de altamente eficaz, cerca de 8% das cepas de *Neisseria gonorrhoeae* isoladas no período pré-sulfônico já eram naturalmente resistentes a esse fármaco.² A resistência às sulfonamidas desenvolveu-se rapidamente,^{3,4} e, em meados da década de 1940, a prevalência de cepas sulfonamidas resistentes mostrou-se extremamente elevada, com 15% em 1942

Recebido em 25.09.2003.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 04.12.2004.

* Trabalho realizado no Hospital das Clínicas FMUSP/Faculdade Saúde Pública da USP

¹ Prof. Dr. do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

² Prof. Dr. da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Centro de Saúde/Escola Geraldo de Paula Souza

³ Prof. Dr. do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

e 59% em 1943.⁴ Com o aparecimento da penicilina em 1943 e sua indicação para o tratamento da gonorréia, uma nova era se inicia para a terapêutica dessa moléstia, tendo que inicialmente essa droga se mostrou altamente eficaz.⁵ No entanto, a expectativa de que a *Neisseria gonorrhoeae* viesse a desaparecer com o uso da penicilina não se concretizou, sendo que no final da década de 1950 vários relatos apontavam uma redução da sensibilidade do gonococo à penicilina.^{6,8} Ao final da década de 1970 necessitava-se de uma dose terapêutica de 4.800.000UI, que é 16 vezes superior à utilizada para seu tratamento em 1943.⁹

A partir do final da década de 1980 começaram a ser descritos altos níveis de resistência mediada cromossomalmente, envolvendo várias drogas comumente utilizadas no tratamento da gonorréia, entre elas a espectinomicina, em que a resistência é devida a um sítio único de mutação, resultando em altos níveis de resistência a este fármaco^{10,11} e às cefalosporinas, observada em cepas que promovem associação de sítios genéticos de resistência, produzindo o chamado fenômeno pleotrópico.¹²

Concomitantemente ao crescimento da resistência cromossômica a outras drogas, a tetraciclina tomou o mesmo rumo, sendo que já em 1972 uma dose terapêutica simples da mesma ou de seus análogos mostrava-se ineficaz.¹³

Sabe-se hoje que os aspectos culturais vigentes nos diversos fragmentos populacionais determinam capital importância nos mecanismos de instalação, manutenção, propagação e resistência dessas cepas. Dentre eles destaca-se o uso indiscriminado de antibióticos que, segundo a Organização Mundial da Saúde, estariam ligados às pressões sociais relativas a doenças sexualmente transmissíveis, ainda estigmatizantes, e à ação intempestiva de médicos e paramédicos fomentando o uso excessivo de drogas antimicrobianas.¹⁴

Em virtude de a tetraciclina ainda constar de diversos manuais e guias terapêuticos oficiais para o tratamento da gonorréia, de maneira isolada ou associada a outras drogas, e frente aos inúmeros relatos de falha terapêutica associados à ausência de estudos no Brasil sobre a real

incidência de resistência cromossômica à tetraciclina, os autores procederam ao estudo desse fenômeno.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado em pacientes portadores de gonorréia aguda não complicada, com ou sem sintomatologia e de ambos os sexos, que procuraram espontaneamente o Serviço de Doenças Sexualmente Transmissíveis da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e o Ambulatório de Doenças Sexualmente Transmissíveis do Centro de Saúde/Escola Geraldo de Paula Souza, da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, no período de 1998 a 2002. As características quanto ao sexo e idade dos pacientes estão expressas no quadro 1. Todos os pacientes em fase inicial de diagnóstico foram submetidos à coleta de material uretral ou cervical, segundo especificações técnicas apropriadas.¹⁵ O material coletado foi processado por bacterioscopia direta após coloração pelo método de Gram modificado,¹⁶ e, concomitantemente, foi realizada cultura para *Neisseria gonorrhoeae* em meio seletivo de Thayer Martin modificado,¹⁷ sendo a identificação comprobatória realizada pela reação de acidificação de açúcares em meio de ágar Cistina-triptose.¹⁸ Após sua identificação, as cepas de *Neisseria gonorrhoeae* foram submetidas ao teste de concentração inibitória mínima (CIM) à tetraciclina pelo método de diluição em ágar, segundo especificações técnicas apropriadas.^{19,21} A droga testada foi o cloridrato de tetraciclina, que *in vitro* tem seus resultados aplicáveis à clortetraciclina, oxitetraciclina e outros membros desse grupo, sendo a mesma preparada segundo técnicas consagradas na literatura, diluída em solução salina e incorporada ao meio de cultura em temperatura de 56°C,^{22,23} de maneira a se obter as seguintes concentrações finais: 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16 e 32µg/ml. Na interpretação dos resultados foram consideradas sensíveis à tetraciclina as cepas que apresentavam concentração inibitória mínima menor ou igual a 0,5µg/ml e resistentes as que apresentavam concentração inibitória mínima maior ou igual a 1µg/ml.²⁴

QUADRO 1: Distribuição por sexo e idade dos pacientes estudados

Idade	Masculino	Feminino	Total
15	1	–	1
16-20	17	2	19
21-25	25	1	26
26-30	37	1	38
31-35	23	3	26
36-40	13	–	13
41-45	5	–	5
46-50	3	1	4
Total	124	8	132

TABELA 1: Distribuição do número e percentual das 253 cepas de *N. gonorrhoeae* estudadas segundo os níveis de CIM.

	Número de cepas	Porcentagem
0,125µg/ml	5	1,97
0,25µg/ml	6	2,37
0,5µg/ml	140	55,33
1µg/ml	31	12,25
2µg/ml	60	23,71
4µg/ml	7	2,76
8µg/ml	–	–
16µg/ml	4	1,58
32µg/ml	–	–
Total	253	99,97

CIM = concentração inibitória mínima

RESULTADOS

Foram isoladas 289 cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, e dessas 253 foram submetidas ao teste de concentração inibitória mínima à tetraciclina, uma vez que 36 cepas foram perdidas durante o processo de preparo e estocagem.

Os resultados obtidos no estudo de sensibilidade estão expressos na tabela 1, sendo que a resistência cromossômica detectada foi de 40,3% dentre todas as cepas testadas, observando-se os critérios estabelecidos pelo Center for Diseases Control.²⁴

DISCUSSÃO

O National Committee for Clinical Laboratory Standards²⁵ dos Estados Unidos - NCCLS vem adotando quatro categorias de sensibilidade a antibióticos, classificando-os como sensível, moderadamente sensível, intermediário e resistente. Em contrapartida, o Center for Diseases Control - CDC, de Atlanta, como órgão de vigilância epidemiológica mais efetivo no continente americano, simplifica as categorias interpretativas quanto à susceptibilidade a antimicrobianos. Dessa forma, de acordo com o quadro 2, seriam consideradas cepas resistentes à tetraciclina, segundo o NCCLS,²⁵ as que apresentassem CIM maior ou igual a 2µg/ml; entretanto, segundo o CDC, seriam consideradas resistentes as cepas com CIM maior ou igual a 1µg/ml.

Assim sendo, este estudo detectou taxa de resistência da *Neisseria gonorrhoeae* à tetraciclina, se analisada segundo o NCCLS, de 28,05% entre as cepas estudadas. Ainda segundo o NCCLS, 67,58% das cepas isoladas seriam moderadamente sensíveis à tetraciclina com possibilidade de falha terapêutica oscilando

entre 5 e 15%, e, apenas 4,34% seriam cepas consideradas sensíveis. Essa divisão de categorias proposta pelo NCCLS, embora científica, poderia ser considerada arriscada quando adotada em um sistema de vigilância epidemiológica, uma vez que as cepas classificadas como moderadamente sensíveis apresentam potencialmente maior probabilidade de sofrer modificações de sua sensibilidade por mecanismos de pressão seletiva. Em relação aos critérios adotados pelo CDC, que se apresentam de forma mais adequada a um programa de vigilância epidemiológica, foram encontradas 40,3% das cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes à tetraciclina.

Os achados de percentuais de resistência à tetraciclina começaram a ser enfatizados no início da década de 1970, sendo que a partir desta época a resistência à tetraciclina vem apresentando tendências crescentes.²⁶⁻²⁹

Em relação aos resultados obtidos neste estudo, os autores acreditam que o problema da resistência cromossômica à tetraciclina no Brasil, pelos percentuais encontrados (40,3%), deva ser tão antigo quanto os já observados na literatura. Acreditam ainda que os altos níveis de resistência encontrados estejam ligados aos fenômenos de pressão seletiva, que atuariam como favorecedores para a instalação, manutenção e propagação dessas características de resistência.

Telzak,³⁰ estudando fatores de risco para a instalação da resistência à tetraciclina, indica que o uso indiscriminado dessa droga selecionaria microorganismos colonizadores do trato geniturinário, os quais, na vigência de uma infecção gonocócica, potencialmente seriam habilitados a transferir por conjugação e recombinação tais características gênicas ao gonococo.

QUADRO 2: Classificação dos níveis de sensibilidade à tetraciclina

Órgão indicador	Sensível	Moderadamente sensível	Resistente
NCCLS	≤0,25mg/ml	0,5-1mg/ml	2mg/ml
CDC	≤0,5mg/ml	–	1mg/ml

CDC: Center for Diseases Control

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

CONCLUSÕES

Embasados nos resultados obtidos neste estudo, crêem os autores ser imprescindível a instalação de um sistema eficiente de vigilância epidemiológica em relação à sensibilidade dos agentes etiológicos aos antimicrobianos, assim como uma reavaliação das indicações

de uso da tetraciclina e derivados, isolados ou associados a outras drogas, no tratamento da gonorréia no Brasil, frente ao atual estado de resistência cromossômica detectado, desaconselhando sobremaneira seu uso e de seus derivados, em face da possibilidade de conseqüências clínicas graves a esses pacientes. □

REFERÊNCIAS

- Cokkins AJ, McElligott GLM. Sulphanilamide in Gonorrhoeae. *Lancet*. 1938;2:355-62.
- Reyn A. Sensitivity of N. Gonorrhoeae to antibiotics. *Br J Vener Dis*. 1961;37:145-57.
- Goodale WT, Gould RG. Laboratory identification of sulfonamide-resistant gonococcal infections. *JAMA*. 1943;123:547-49.
- Carpenter CM, Ackerman H. Correlation of in vitro sulfonamide resistance of the gonococcus with results sulfonamide therapy. *Am J Public Health*. 1944;34:250-4.
- Mahoney JF, Ferguson C, Buchholtz M. The use of penicillin sodium in the treatment of sulfonamide-resistant gonorrhea in men: a preliminary report. *Am J Syph Gonorr Vener Dis*. 1943;27:525-8.
- Thayer JD, Field FN, Magnusos HJ. The sensitivity of gonococci to penicillin and its relationship to penicillin failures. *Antibiot Chemother*. 1957;7:306-10.
- Curtis FR, Wilkinson AE. A comparison of the in vitro sensitivity of gonococci to penicillin with the results of treatment. *Br J Vener Dis*. 1958;34:70-8; discussion 78-82.
- Willcox RR. Treatment problems of gonorrhoea. *Bull World Health Organ*. 1961;24:307-19
- Kauffman RE, Johnson RE, Jaffe HW, Thornsberry C, Wiesner PJ. National gonorrhoeae therapy monitoring study. Treatment results. *N Engl J Med*. 1976;294:1-4.
- Zienilman JM, Nims LJ, Menegus MA, Knapp JS. Spectinomycin-resistant gonococcal infections in the United States, 1985-86. *J Infect Dis*. 1987;156:1002-4.
- Gollow MM, Blums M, Ismail A. Penicillin-sensitive spectinomycin resistant- Neisseria gonorrhoeae. *Med J Aust*. 1986;144:651-2.
- Ison CA, Gedney J, Easmon CSF. Chromosomal resistance of gonococci to antibiotics. *Genitourin Med*. 1987; 63:239-43.
- Wiesner PJ, Holmes KK, Sparling PF, Karney WW. Single doses of methacycline and doxycycline for gonorrhoea: A cooperative study of the frequency and cause of treatment failure. *J Infect Dis*. 1973;127:461-6
- Organizacion Panamericana de la Salud. Neisseria gonorrhoeae. Resistência à multiples antibióticos. *Bol Epidemiol*. 1985;6:7-10
- Siqueira LFG. O laboratório nas Doenças Sexualmente Transmissíveis. *Bol Inform Union*. 1983;8:1-2.
- Siqueira LFG. O laboratório nas doenças sexualmente Transmissíveis II. *Bol Inform Union*. 1984;9:6-8.
- Martin JE, Lester A. Transgrow, a medium for transport and growth of Neisseria gonorrhoeae and Neisseria meningitides. *Public Health*. 1971;86:30-3.
- Shtibel R, Toma S. Neisseria gonorrhoeae: evaluation of some methods used for carbohydrate utilization. *Can J Microbiol*. 1978;24:177-81
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards antimicrobial susceptibility testing: second informational supplement. M100-52 National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1987.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: tentative standard. M7-T2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1988.
- Washington II JA. Susceptibility tests: Agar dilution. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. *Manual of clinical microbiology*. 4th. Washington, American Society for Microbiology; 1985. p. 967-71.
- Anhalt JP, Washington II JA. Preparation and storage of antimicrobial solutions. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. *Manual of clinical microbiology*. 4th. Washington: American Society for Microbiology; 1985. p.1019-20
- Finegold SM, Baron EJ. Metodos para evaluar la efectividad antimicrobiana. In: Bailey-Scott. *Diagnostico microbiologico*. 7^a ed. Buenos Aires: Editora Medica Panamericana; 1989. p.190-210.
- Center for Disease Control and Prevention. Antibiotic-resistant strains of Neisseria gonorrhoeae. Policy guidelines for detection, management and control. *MMWR*. 1987; 36:1-14.
- National Committee for clinical Laboratory Standards. MIC interpretive standards of three categories of susceptibility for Neisseria gonorrhoeae. M7-10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1990.
- Piot P, Dyck EV, Colaert J, Ursi JP, Meheus A. Antibiotic susceptibility of N.gonorrhoeae strains from Europe and Africa. *Antimicrob Agents Chemother*. 1974;15:535-39
- Fernandez H, Oth L. Sensibilidade in vitro de N. gonorrhoeae a seis drogas antimicrobianas. *Rev Microbiol*. 1983;14:273-5.
- King SD, Brathwaite AR, Dillon JR. Treatment of gonorrhoea and susceptibility to antimicrobials of PPNG and non-PPNG strains in Jamaica. *Genitourin Med*. 1987;63:365-70.
- Belda Jr W, Siqueira LFG, Nico M, Fagundes LJ. Atividade in vitro de cinco drogas antimicrobianas contra Neisseria gonorrhoeae. *An Brás Dermatol*. 2002;77:661-7.
- Telzak EE, Spitalny KC, Faur YC, Knapp JS, Schultz S, Gunn RA, Blum S. Risk factors for infection with plasmid mediated high-level tetracycline resistant Neisseria gonorrhoeae. *Sex transm Dis*. 1989;16:132-6.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA: / MAILING ADDRESS:

Walter Belda Junior

Av. Açocê, 162 - Moema

São Paulo SP 04075-020

Tel: (11) 5051-1921

E-mail: walterbelda@uol.com.br