

# Avaliação *in vitro* da sensibilidade bacteriana à fluorquinolona norfloxacin em infecções oculares em serviço de referência\*

Bacterial susceptibility *in vitro* evaluation of the fluorquinolone norfloxacin in ocular infections in a reference service

Procópio Miguel dos Santos \*\*  
Marinho Jorge Scarpi \*\*\*  
Tânia Guidugli \*\*\*\*

## RESUMO

Foi analisada a sensibilidade *in vitro* à fluorquinolona norfloxacin de 224 microrganismos isolados de 213 culturas consecutivas obtidas junto ao Laboratório de Patologia Externa da Escola Paulista de Medicina no período de agosto de 1989 a julho de 1990.

Os microrganismos foram isolados de infecções oculares (blefarite, blefaroconjuntivite, conjuntivite, úlcera de córnea, dacriocistite, endoftalmite e meibomite), sendo submetidos ao antibiograma para norfloxacin, tobramicina, gentamicina, cefalotina e amicacina.

A norfloxacin foi eficaz contra *S. epidermidis*, teve atividade similar à gentamicina contra espécies de *Pseudomonas* e *Haemophilus*. Sua eficácia ficou aquém da gentamicina para *P. mirabilis* e *P. vulgaris*. Também não mostrou atividade superior à cefalotina para *S. aureus* e *S. pneumoniae*.

**Palavras-chave:** Fluorquinolona, Norfloxacin, Sensibilidade Bacteriana, Infecção Ocular.

## INTRODUÇÃO

As quinolonas representam uma família de antibióticos que existe desde os anos 60. Sua origem deve-se, como na maioria das pesquisas sobre antibióticos, mais ao acaso do que ao planejamento. O primeiro composto da classe com atividade antibacteriana foi descoberto no sobrenadante do processo de destilação da síntese de cloroquina. A partir desse composto, que era halogenado como as quinolonas, desenvolveu-se o ácido nalidíxico, o precursor de todos os outros compostos. O ácido nalidíxico e o ácido pipemídico figuram entre os mais conhecidos e foram denominados quinolonas de primeira geração. Na última década,

surgiram novas quinolonas, também chamadas fluorquinolonas, 4-quinolonas, carboxiquinolonas ou ácido carboxílico quinolona, originando-se a norfloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina, perfloxacina e outros, conhecidos como quinolonas de segunda geração (Adenis e col., 1989).

Essas drogas diferem significativamente dos agentes primitivos pelo aumento da potência, atividade bacteriana de amplo espectro e decréscimo de resistência bacteriana. Muitas também exibem farmacocinética, permitindo tratamento de infecções bacterianas sistêmicas (Wolfson e col., 1989).

A norfloxacin é a primeira das fluorquinolonas sintéticas de uso sistêmico oral. Quimicamente des-

\* Trabalho realizado no Laboratório de Patologia Externa do Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

\*\* Preceptor de Residência Médica do Hospital de Base de Brasília e Assistente Superior da FPDF. Pós-Graduando (Nível Mestrado) no Serviço de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

\*\*\* Mestre e Doutor pela Escola Paulista de Medicina. Chefe do Laboratório de Doenças Externas do Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

\*\*\*\* Bióloga responsável pelo Laboratório de Doenças Externas do Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

Endereço para correspondência: Dr. Procópio Miguel dos Santos - SHLS Qd - 716 - s/ 208 - Centro Clínico Oswaldo Cruz - CEP 70390 - Brasília - DF

critico como ácido quinolônico carbóxico antibacteriano tendo constituição química de ácido 1-etil-6-flúor, 4-deidro-4-oxa-7-(1-epiperazinil)-3-quinolinocarboxílico. Possui um átomo de flúor na posição 6 e um radical piperazínico na posição 7, os quais aumentam a potência contra microrganismos Gram-negativos (Goldstein e col. 1987; Nolan e col., 1988).

O composto norfloxacin é bactericida; o mecanismo de ação dessa droga envolve a inibição da DNA-girase bacteriana, uma enzima essencial envolvida na replicação do DNA, desse modo causando quebra da cadeia dupla de DNA com filamentação de células bacterianas (Goldstein e col., 1987; Nolan e col., 1988).

Vários estudos *in vitro* demonstram a eficácia da norfloxacin contra patógenos mais freqüentemente isolados de infecções oculares (Shungu e col., 1985; Adenis e col., 1989).

O objetivo do presente estudo é avaliar a sensibilidade *in vitro* das bactérias isoladas de infecções oculares à norfloxacin e comparar esta sensibilidade à obtida com a tobramicina, cefalotina, amicacina e gentamicina.

#### MATERIAL E MÉTODO

Foram analisados 224 microrganismos isolados de 213 culturas consecutivas, oriundas de várias infecções de pacientes encaminhados ao Laboratório de Doenças Externas do Departamento de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina no período de agosto de 1989 a julho de 1990.

A idade dos pacientes variou de 2 dias a 90 anos. Cento e onze pacientes foram do sexo masculino e 102 do sexo feminino.

O diagnóstico clínico dos pacientes foram: 26 casos de blefarites, 33 blefaroconjuntivites, 105 conjuntivites, 39 úlceras de córnea, um dacriocistite, 14 endoftalmites, seis meibomites. As amostras foram colhidas da pálpebra, conjuntiva, cór-

nea, vítreo, do saco lacrimal através da expressão.

Utilizou-se zaragatoa para a colheita de material das margens palpebrais, da conjuntiva tarsal e fórnice inferior. Nenhum colírio anestésico foi instilado. A colheita do material corneano foi realizada com espátula de Kimura e sob anestesia tópica com uma gota de proparacafina a 0,5%. O material da câmara anterior foi obtido por paracentese com agulha e seringa de tuberculina, após anestesia tópica com uma gota de proparacafina a 0,5%. O material do vítreo foi obtido por punção com agulha (10 x 5) e seringa de tuberculina, após anestesia tópica com uma gota de proparacafina e injeção subconjuntival de 0,5 ml de lidocafina a 2% (Lima e col., 1985; Wilson, 1981; Belfort Jr. e col., 1981).

A técnica utilizada para cultura do material obtido de infecções oculares foi a descrita por Wilson (Barry e col., 1987). Inocula-se separada-

mente o material colhido da pálpebra, conjuntiva, córnea, humor aquoso, vítreo e saco lacrimal em placas de ágar-sangue, ágar-chocolate e ágar-Sabouraud. A identificação bacteriana e o teste de sensibilidade foram avaliados pelo método de difusão com disco-método de Kirby e Bauer (Barry e col., 1985). Os antibióticos testados continham as seguintes concentrações nos discos (CEFAR\*): norfloxacin 10 mcg, tobramicina 10 mcg, gentamicina 10 mcg, cefalotina 30 mcg e amicacina 30 mcg.

Os microrganismos sensíveis foram aqueles que apresentaram halo de inibição maior que 15 mm para tobramicina e gentamicina, maior que 17 mm para norfloxacin e amicacina e maior que 18 mm para cefalotina.

\* CEFAR - Fármaco Diagnóstico Ltda. - São Paulo - SP

TABELA I  
Número de microrganismos isolados nas várias patologias oculares

Patologias oculares	Microrganismos							TOTAL
	<i>S. aureus</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Haemophilus sp</i>	<i>S. epidermidis</i>	
Blefarite	24	1	-	-	1	-	-	26
Blefaroconjuntivite	32	1	-	-	-	-	-	33
Conjuntivite	84	3	4	6	3	4	1	105
Úlcera de córnea	24	7	5	1	2	-	-	39
Dacriocistite	1	-	-	-	-	-	-	1
Endoftalmite	9	-	1	1	-	2	1	14
Meibomite	6	-	-	-	-	-	-	6
TOTAL	180	12	10	8	6	6	2	224

# Máximo controle das conjuntivites alérgicas



# Maxicrom<sup>®</sup>

Cromoglicato de Sódio a 2% e 4%

## Eficácia clínica comprovada

- Impede a inflamação. • Evita a vasodilatação.
- Inibe o edema • Reduz o prurido e elimina o ardor.

## Segurança comprovada

- Tratamento coadjuvante com esteróides e outras substâncias antiinflamatórias sem aumento de efeitos colaterais.

**Alcon**  
Linha Oftálmica

## RESULTADOS

A Tabela I mostra o número de microrganismos isolados de várias patologias oculares.

Das 213 culturas foram isolados 180 vezes *Staphylococcus aureus* (80,35%), 12 vezes *Proteus mirabilis* (5,35%), dez vezes *Streptococcus pneumoniae* (4,46%), oito vezes *Proteus vulgaris* (3,57%), seis vezes *Pseudomonas* sp (2,67%), seis vezes *Haemophilus* sp (2,67%), duas vezes *Staphylococcus epidermidis* (0,89%).

A Tabela II mostra a sensibilidade dos microrganismos a cada antibiótico.

Das 180 cepas de *Staphylococcus aureus* testadas, 177 (98,33%) foram inibidas pela cefalotina, 153 (85%) pela gentamicina, 126 (70%) pela tobramicina, 116 (64,44%) pela norfloxacin e 58 (32,22%) pela amicacina.

Num total de 12 cepas de *Proteus mirabilis* isoladas, 11 (91,66%) foram sensíveis à gentamicina, oito (66,66%) à norfloxacin, à tobramicina e à amicacina. Apenas três (25%) foram sensíveis à cefalotina.

Todas as cepas de *Streptococcus pneumoniae* isoladas, 100% foram inibidas pela cefalotina, sete (70%) pela norfloxacin, quatro (40%) pela gentamicina, duas (20%) pela tobramicina e nenhuma foi sensível à amicacina.

A gentamicina e a amicacina inibiram cinco (62,50%) dos oito *Proteus vulgaris* isolados, apenas dois (25%) foram sensíveis à norfloxacin e tobramicina e um (12,50%) à cefalotina.

Das seis cepas de *Pseudomonas* sp testadas, cinco (83,33%) foram sensíveis à norfloxacin, à tobramicina, à gentamicina e à amicacina. Nenhuma cepa foi inibida pela cefalotina.

Das seis cepas de *Haemophilus* sp, cinco (83,33%) foram sensíveis à norfloxacin e à gentamicina. A tobramicina inibiu três (50%), a cefalotina e amicacina inibiram duas (33,33%).

## TABELA II

Porcentagem de bactérias sensíveis a diferentes antibióticos, a infecções oculares diversas

Microrganismo	Antibiótico				
	Norfloxacin	Tobramicina	Gentamicina	Cefalotina	Amicacina
<i>S. aureus</i>	64,44%	70,00%	85,00%	98,33%	32,22%
<i>P. mirabilis</i>	66,66%	66,66%	91,66%	25,00%	66,66%
<i>S. pneumoniae</i>	70,00%	20,00%	40,00%	100,00%	0%
<i>P. vulgaris</i>	25,00%	25,00%	62,50%	12,50%	62,50%
<i>Pseudomonas</i> sp	83,33%	83,33%	83,33%	0%	83,33%
<i>Haemophilus</i> sp	83,33%	50,00%	83,33%	33,33%	33,33%
<i>S. epidermidis</i>	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	50,00%
TOTAL	64,73%	66,07%	82,58%	87,05%	35,26%

Todas as cepas de *Staphylococcus epidermidis* foram sensíveis à norfloxacin, à tobramicina, à gentamicina e à cefalotina, apenas uma cepa (50%) foi inibida pela amicacina.

## DISCUSSÃO

No presente estudo *in vitro*, a norfloxacin foi 100% ativa contra os *S. epidermidis* isolados, equiparando-se à tobramicina, à gentamicina e à cefalotina. Estudos anteriores realizados por Neu e col. (1982) mostraram que todos os *S. epidermidis* foram sensíveis à norfloxacin.

A sensibilidade das *Pseudomonas* sp à norfloxacin foi de 83,33%, sendo similar à tobramicina, à gentamicina e à amicacina. Extensas pesquisas têm sido feitas para identificar *in vitro* a potência da norfloxacin contra *P. aeruginosa*. A norfloxacin mostrou-se igual ou mais potente que os antimicrobianos disponíveis comercialmente contra *P. aeruginosa*, segundo pesquisa realizada por Borrmann e col. (1988).

Norrby e col. (1983) determinaram que a norfloxacin foi altamente ativa inibindo o crescimento de *P. aeruginosa* em 90%, incluindo as espécies resistentes ao ácido nalidíxico. Jesen e col. (1988) também encontraram 90% de atividade da norfloxacin contra *P. aeruginosa*, incluindo as espécies aminoglicosídeos resistentes. Em um estudo *in vitro* realizado por Bywater e col. (1988) mostraram que a norfloxacin foi o agente antibacteriano mais ativo

contra *P. aeruginosa* quando comparado à gentamicina e à tobramicina.

A sensibilidade do *Haemophilus* sp à norfloxacin foi de 83,33%, sendo igual à gentamicina. Os outros agentes antimicrobianos testados neste estudo foram menos ativos contra o *Haemophilus* sp. Resultados de estudos prévios realizados por Shungu e col. (1985) e Goldstein e col. (1987) constataram que 90% dos *Haemophilus* sp foram inativados pela norfloxacin.

O *S. aureus* mostrou-se 64,44% sensível à norfloxacin, enquanto que a cefalotina inibiu o crescimento de 98,33% das cepas de *S. aureus*, a gentamicina 85%, a tobramicina 70%. Esses achados são discordantes dos obtidos por Shungu e col. (1983), em que a norfloxacin apresentou 90% de atividade contra *S. aureus*.

Sugar e col. (1986) também concluíram que a norfloxacin teve uma ampla faixa de atividade contra Gram-positivos, incluindo espécies de *Staphylococcus* resistentes para antibióticos do grupo B-lactâmicos e aminoglicosídeos.

A sensibilidade do *S. pneumoniae* à norfloxacin foi de 80%. A mesma espécie foi inibida em 100% pela cefalotina. Esses resultados são concordantes com os estudos realizados por Shungu e col. (1985), onde a norfloxacin inibiu o crescimento de Gram-positivos dessa espécie em 69%.

Foi verificado que *P. mirabilis* mostrou-se suscetível à norfloxacin

numa faixa de 66,66%, demonstrando ser tão eficaz quanto à tobramicina e à amicacina para esta espécie de microrganismos. A cefalotina foi o antibiótico mais ativo, todas as cepas de *P. mirabilis* foram inibidas. Este estudo equiparou-se ao estudo realizado por Goldstein e col. (1987), onde o *P. mirabilis* foi sensível em 90% à norfloxacin.

De todos os microrganismos testados as cepas de *P. vulgaris* foram as que demonstraram menor sensibilidade a esta fluorquinolona *in vitro*, somente 25% das cepas foram inibidas pela norfloxacin. Enquanto que a gentamicina e a amicacina foram ativas numa percentagem de 62,50%. Esse estudo difere dos resultados encontrados por Shungu e col. (1983), onde eles observaram 90% de sensibilidade do *P. vulgaris* à norfloxacin.

De maneira geral a norfloxacin é potencialmente uma droga útil no tratamento das infecções oculares, segundo relatos de Shungu e col. (1985). Resultados de Cutarelli e col. (1990) reforçam a eficácia potencial das fluorquinolonas, especialmente a norfloxacin, no tratamento de infecções bacterianas oculares causadas por *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *P. mirabilis*, mostrando-se mais sensível à norfloxacin que a gentamicina e a cefalotina em estudos *in vitro*. Nessa investigação a norfloxacin não foi mais eficaz que a cefalotina em estudos *in vitro*. Nessa investigação a norfloxacin não foi mais eficaz que a cefalotina e gentamicina para inibir o crescimento das cepas de *S. aureus* isoladas de infecções oculares. Sua atividade contra *P. mirabilis* e *P. vulgaris* mostrou-se aquém da gentamicina. A norfloxacin também não foi o melhor antibiótico entre os outros estudados para inibir o crescimento do *S. pneumoniae*. Apenas foi altamente potente contra *S. epidermidis*, da mesma forma que os outros três compostos comportaram nesse estudo de sensibilidade comparativa *in vitro*.

## SUMMARY

*The authors analyze the sensitivity in vitro to fluorquinolone norfloxacin of 224 microorganisms isolated from 213 consecutive cultures obtained at the Laboratory of External Pathology of Escola Paulista de Medicina from August 1989 to July 1990.*

*Microorganisms were isolated from ocular infections (blepharitis, blepharo-conjunctivitis, conjunctivitis, corneal ulcers, dacriocystitis, endophthalmia and meibomitis) and submitted to antibiograma for norfloxacin, tobramycin, ampicillin, gentamicin and cephalotin.*

*Norfloxacin was found to be highly active against S. epidermidis. It showed a similar level of activity to gentamicin against Pseudomonas and Haemophilus. Its efficacy was inferior to gentamicin against P. mirabilis and P. vulgaris. It did not show higher activity than cephalotin against S. aureus and S. pneumoniae either.*

## AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Adjunta Maria Regina Fernandes de Toledo, da Disciplina de Microbiologia da Escola Paulista de Medicina, pelas valiosas sugestões na elaboração deste trabalho.

À MERCK SHARP & DOHME-CHIBRET por ceder os discos de sensibilidade da Norfloxacin.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DENIS, J.P.; DENIS, F.; BRON, A.; COLIN, J.; FRANCO, J.L.; MOUNIER, M. - Infections et Inflammations du Segment Antérieur de L'Oeil. In: BRON, A. - *Apport des Quinolones en Ophtalmologie*. Paris, MERCK SHARP & DOHME-CHIBRET, 1989, p. 115.
- ADENIS, J.P.; DENIS, F.; BRON, A.; COLIN, J.; FRANCO, J.L.; MOUNIER, M. - Infections et Inflammations du Segment Antérieur de L'Oeil. In: DENIS, F. e MOUNIER, M. - *Rappel sur les différentes classes d'agents anti-microbiens. Principales classes de collyres et leur spectre d'activité*.

Paris, MERCK SHARP & DOHME-CHIBRET, 1989, p. 25-47.

- BARRY, A.L. & THORNSBERRY, C. - Susceptibility testing: diffusion test procedures. In: LENNETTE, E.H.; BALLOWS, A.; HAULER JR., W.J.; SHADOMY, H.J. - *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1985, p. 978-87.
- BELFORT JR., R.; SILVA, V.L.P.; ALMADA, A.T.; TOMINATSU, P. - Laboratório em Doenças externas oculares. In: BELFORT JR., R.; ALMADA, A.T. e TOMIMATSU, P. - *Doenças Externas Oculares*. São Paulo, Roca, 1981, p.1-2.
- BORRMANN, L.R.; LEOPOLD, I.H. - The potential use of Quinolones in Future Ocular Antimicrobial Therapy. *Am. J. Ophthalmol.*, 106:227-9, 1988.
- BYWATER, M.J.; HOLT, H.A.; REEVES, D.S. - In Vitro Activity of Norfloxacin in comparison with Topical Antimicrobial Agents against 142 Potencial Ocular Pathogens. *Rev. Infect. Dis.*, 10 (suppl. 1):S248-50, 1988.
- CUTARELLI, L.; JACOBS, M.; PUTMAN, S.; LAZARUS, H.; LASS, J. - *Comparative Antibacterial Activity of Fluorquinolones Against Common Corneal Pathogens*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 32:453, 1990.
- GOLDSTEIN, E.J.G. - Norfloxacin, a fluorquinolone antibacterial agent: Classification, mechanism of action, and in vitro activity. *Am. J. Med.*, 82 (suppl. 6B):3-17, 1987.
- GOLDSTEIN, E.J.G.; CITRON, D.M.; BENDOL, L.; VALGVOLGY, I.A.E.; TROUSDALE, M.D.; APPELMAN, M.D. - Potential of Topical Norfloxacin Therapy: Comparative in vitro Activity Against Clinical Ocular Bacterial Isolates. *Arch. Ophthalmol.*, 105:991-4, 1987.
- LIMA, A.L.H.; GUIDUGLI, T.; ALMADA, A.T.; BELFORT JR., R.; FERRARI, J.A. - Avaliação In Vitro da Atividade da Tobramicina em Infecções Oculares. *Rev. Bras. de Oftalmol.*, 44: 141-5, 1985.
- NEU, H.C.; LABTHAVIKUL, P. - In vitro Activity of Norfloxacin, a Quinolone Carboxylic Acid, compared with that of B-Lactams, Aminoglycosides, and Trimethoprim. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 22:23-7, 1982.
- NOLAN, P.E.; BASS, J.B. - New Drugs for Treating Lung Infections. *Chest*, 94:1076-9, 1988.
- NORRBY, S.R.; JONSSON, M. - Antibacterial Activity of Norfloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 23:15-18, 1983.
- OSATO, M.J.; JENSEN, H.G.; TROUSLALE, M.D.; BOSSO, J.; BORRMANN, L.R.; FRANK, J.; AKERS, P. - Pharmid the Comparative in vitro Activity of ofloxacin with five other Antibiotics Against Ocular Bacterial Isolates. *Amer. J. Ophthalmol.*, 108:380-6, 1989.

*Avaliação in vitro da sensibilidade bacteriana à fluorquinolona  
norfloxacina em infecções oculares em serviço de referência*

15. SHUNGU, D.L.; WEIMBERG, E.; GADEBUSCH, H.H. – In vitro Antibacterial Activity of norfloxacin (MK-0366, Am – 715) and other agents against gastro intestinal tract pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 23:86-90, 1983.
16. SHUNGU, D.L.; TUTLANE, V.K.; WEIMBERG, E.; GADEBUSCH, H.H. In vitro Antibacterial activity of norfloxacin and other agents against ocular pathogens. *Chemotherapy*, 31:112-8, 1985.
17. SUGAR, A.; COHEN, M.A.; BIEN, P.A.; GRIFFIN, T.J.; HEIFETZ, C.L.; MEHTA, S. – Treatment of Experimental Pseudomonas Corneal Ulcers with Enoxacin, a Quinolone Antibiotic. *Arch. Ophthalmol.*, 104:1230-2, 1986.
18. WILSON, L. – Bacterial Conjunctivitis. In: DUANE, T.D. – *Clinical Ophthalmology*. Philadelphia, Harper & Row, 1981. p. 1-19.
19. WOLFSON, J.S.; HOOPER, D.C. – Quinolone Antimicrobial Agents. In: WOLFSON, J.S.; HOOPER, D.C. – *Mechanisms of Action of and Resistance to Quinolone Antimicrobial Agents*. Washington, American Society for Microbiology, 1989. p. 5.

CONSELHO BRASILEIRO DE OFTALMOLOGIA  
CGC 48.939.250/0001-18