

# CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA FLORA BACTERIANA DAS SINUSITES ; VERIFICAÇÃO DE SUA SENSIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS

por

AUGUSTO DE E. TAUNAY

*Do Instituto Adolfo Lutz*

e

MAURO CÂNDIDO DE SOUZA DIAS

*Da Santa Casa de São Paulo*

(Serviço do Dr. Mário Ottoni de Rezende)

Os progressos feitos, recentemente, no campo da terapêutica anti-infecciosa, com a descoberta de novos agentes quimioterápicos e dos antibióticos, vieram realçar a importância em se saber, exatamente, qual o agente infeccioso em causa e, ao mesmo tempo, verificar o medicamento mais útil para o caso.

FLEMING (1947) prescreve regras simples que, a nosso ver, são essenciais para o tratamento de qualquer infecção bacteriana e assim podem ser generalizadas :

- 1) Só deve ser usado um antibiótico quando houver uma infecção produzida por um germe a êle sensível.
- 2) Deve o antibiótico ser administrado de tal modo que possa haver contacto com o agente infectante.
- 3) A dose deve ser tal que, na área infectada, haja uma concentração da droga suficiente para destruir a bactéria.
- 4) O tratamento deve durar até que a infecção seja debelada.

Por motivos alheios a nossa vontade, não nos foi possível realizar um trabalho que se enquadre, totalmente, dentro destes quatro itens. Procuramos verificar quais os germes mais comumente encontrados nas afecções dos seios paranasais e quais os antibióticos, mais comumente usados entre nós, capazes de inibir, "in vitro", tais germes.

Naturalmente não pretendemos afirmar que todos os germes por nós isolados sejam responsáveis pelo processo sinusal, mas podemos admitir que muitos deles sejam realmente os causadores da afecção sinusal.

Desde muito é sabido que as fossas nasais possuem uma flora nasal constituída, em geral, por estafilococos e por bacilos difteróides, sendo pouco freqüentes estreptococos e cocos Gram-negativos do tipo *Neisseria pharyngis* (WILSON e MILES, 1946). Essa flora não é fixa e pode variar com as estações do ano, mas, de um modo geral, são êsses os germes que aí predominam.

Já as cavidades sinusais parecem ser estéreis (TORNE, 1936).

Sabendo-se que muitos germes, em determinadas circunstâncias, podem invadir as cavidades sinusais, pareceu-nos interessante verificar, à semelhança do que já fôra feito em outros países, quais os germes mais freqüentes nos processos inflamatórios sinusais e qual a ação, "in vitro", dos vários antibióticos sôbre êles, uma vez que, hoje em dia, é ponto pacífico a resistência que uma bactéria pode desenvolver a determinado antibiótico. A verificação do aparecimento de formas de resistência à penicilina em algumas bactérias sensíveis fôra observada por Fleming. A explicação de um dos mecanismos pelo qual se processa êsse fato foi demonstrada por ABRAHAM e CHAIN (1940), quando verificaram a inativação da penicilina por uma substância, semelhante a uma enzima, que êles denominaram de penicilinase. A produção de penicilinase foi verificada em muitas bactérias penicilino-resistentes e a sua presença provoca a resistência da bactéria ao antibiótico, podendo ainda perturbar a terapêutica pela penicilina, pois que, no caso de haver uma infecção mixta, sendo um dos germes produtor da penicilinase, esta, inativando a penicilina, faz com que não tenha ação sôbre as outras bactérias sensíveis. Muitas vêzes, no grupo das bactérias sensíveis à penicilina, vamos encontrar certas cepas produtoras de penicilinase, portanto penicilino-resistentes.

SPINK, HALL e FERRIS (1945), fazendo estudos sôbre o estafilococo, acreditam que êste apresente dois tipos de resistência à penicilina. O primeiro seria temporário, poderia ser produzido "in vitro" e não estaria associado a produção de penicilinase. O segundo ocorre nos doentes tratados pela penicilina, nos quais provoca o aparecimento de cepas permanentemente resistentes, devido à sua capacidade em produzir penicilinase.

SPINK (1951) chama a atenção para êste fato, mostrando a possibilidade de um indivíduo ser infectado por uma amostra de estafilococo penicilino-resistente, o qual tornou-se altamente resistente, em conseqüência do tratamento, inadequado ou não, pela penicilina; tal germe adquire êsse caráter de forma permanente conservando a mesma capacidade invasora da cepa de origem. Assim, indivíduos que nunca foram tratados pela penicilina podem ser infectados por estafilococos penicilino-resistentes.

Não há dúvida que o aumento de número de amostras resistentes está relacionado ao uso generalizado dos antibióticos em doses talvez inadequadas (J.A.M.A., 1951).

As observações de BARBER e ROZWADOWSKA (1948) comprovam o que ficou dito acima ; quando, estudando 100 casos de infecção por estafilococos piogênicos num hospital, verificaram que, em 1948, em 59% de casos, o germe era resistente à penicilina ; em 1947, 38%, e em 1946, 14,1%, podendo, assim, estabelecer ligação entre a maior resistência à droga ao uso generalizado da penicilina.

SPINK (1951) fêz algumas observações sôbre o mesmo problema com relação a outros antibióticos : estreptomina, aureomicina e cloranfenicol.

DAVISON (1950), notando que os resultados que obtinha no tratamento das sinusites pela penicilina não eram tão satisfatórios como nos anos anteriores, comparou a sensibilidade à penicilina das bactérias isoladas atualmente e às de anos anteriores. Conclui que, em 1945, 80% dos cocos Gram-positivos isolados do exsudato sinusal eram inibidos por uma concentração de 0,2 unidades de penicilina por ml, ao passo que, em 1950, sômente 12% eram sensíveis à mesma concentração da droga.

O mesmo autor (1951) também atribui a maior resistência de certas bactérias à penicilina ao seu uso generalizado e inadequado, causando a destruição das formas sensíveis, com persistência das resistentes, que iriam infectar outros indivíduos. Chama a atenção para o fato de que, num período relativamente curto (4 anos), grande percentagem da flora bacteriana do trato respiratório superior se tornou resistente à ação da penicilina.

A seguir, estuda a ação da estreptomina, diidro-estreptomina, aureomicina, cloranfenicol e terramicina ; acha que, destes últimos, o que apresenta maior vantagem é a terramicina, ao passo que o cloranfenicol é o que tem menor ação sôbre os cocos Gram-positivos.

Por último, insiste na necessidade de, hoje em dia, se determinar sempre a sensibilidade do germe aos antibióticos antes de usá-los, para evitar os inconvenientes acima apontados.

CARDEWELL (1946) refere-se ao efeito dramático da penicilina, usada localmente, quando o germe era sensível a êste antibiótico.

É um fato de verificação diária a ocorrência, cada dia mais frequente, do aparecimento de formas de infecções agudas ou crônicas das vias aéreas superiores, resistentes à penicilinoterapia. Quem presenciou o aparecimento da penicilina e os efeitos dramáticos desta droga sôbre processos inflamatórios das vias aéreas superiores em doses mínimas não pode deixar de ficar decepcionado e mesmo alarmado com as sombrias perspectivas futuras que oferece a terapêutica pelos antibióticos. Apesar de serem usadas, hoje, doses dez a trinta vezes maiores que no passado, os casos de fracasso terapêuticos se sucedem com frequência progressiva. Se prevalecer a opinião de DEMEREC (1951), dentro de mais alguns anos teremos que pôr de lado a penicilina

como droga arcaica e prosseguir com o uso de outros antibióticos que, por sua vez, serão, no futuro, também rejeitados e assim por diante, até que a ciência médica consiga o antibiótico ideal: aquêle que seja ativo para todos os germes e contra o qual não apareçam raças resistentes.

Em nosso meio, nenhum esforço havia ainda sido feito no sentido de apurar a nossa situação em relação a tão sério problema. O fim dêste trabalho é antes o de um inquérito preliminar sôbre quais possam ser os agentes patógenos das sinusites e qual o seu modo de agir em relação aos vários antibióticos. Esperamos que êste primeiro passo sirva de estímulo para uma pesquisa mais aprofundada neste terreno e que êstes resultados possam repercutir sôbre outros sectores da Medicina, deixando claro que o que sucede com as infecções otolaringológicas pode também reprocessar nos territórios de outras especialidades médicas.

Como se pode verificar pelos trabalhos acima citados, a situação evolui para pior, de ano para ano, o que obriga o meio médico a manter-se em permanente contacto com o problema, a fim de que tenha uma impressão exata da situação no momento atual.

Neste trabalho, não se tratou de comprovação clínica dos exames realizados no laboratório. Em primeiro lugar, porque a moléstia em estudo apresenta fatores de contrôle de cura muito variados e de difícil avaliação. Em segundo lugar, por não nos ser possível utilizar, nas doses e pelo tempo necessário, o antibiótico melhor indicado pelo teste, já que o custo da maioria dêles é quase proibitivo para a média do nosso povo. Todavia, pelos resultados obtidos, acreditamos ser possível tirar algumas conclusões valiosas que poderão nos orientar em sentido prático.

#### MÉTODO DE ESTUDO

##### 1. Origem do material

1) O material para a confecção dêste trabalho foi obtido de três fontes : a) de pacientes portadores de formas crônicas de sinusite e submetidos a intervenção cirúrgica, pela técnica de Caldwell-Luc. b) de pacientes portadores de formas crônicas ou agudas de sinusite com exsudato abundante drenando no meato médio, de onde era aspirado em tubo estéril ou, nos casos de ausência ou escassês de exsudato, por punção diameática. c) de pacientes clinicamente normais (em 25 casos), no sentido de ser comprovada a flora normal das fossas nasais e seu comportamento com relação aos antibióticos.

## 2. Colheita do material

As técnicas usadas para colheita do material foram as seguintes :

1) nos doentes operados, o material era colhido da seguinte maneira : uma vez exposta a parede anterior do seio maxilar, com golpes leves de goiva, procurava-se fazer saltar a delgada lâmina óssea desta parede, permanecendo a mucosa subjacente íntegra. Através desta espécie de fontanela, penetrava-se com uma seringa montada com agulha calibrosa e contendo 5 cc de sôro fisiológico estéril que era injetado dentro da cavidade do antro maxilar e, a seguir, aspirado. Se, com esta manobra, se conseguia pouco ou nenhum exsudato, a manobra era repetida uma ou duas vezes, a fim de se dissolver o pus dentro da cavidade sinusal, facilitando a sua retirada. A seguir, êste material era colocado em tubo de ensaio estéril e enviado ao laboratório. Entre a hora da colheita e a hora da sementeira, o lapso decorrido era de 4 a 6 horas. O cirurgião que colhia o material apresentava-se sob condições totais de assepsia.

2) nos pacientes não operados, o material era colhido de duas maneiras : a) quando havia exsudato abundante no meato médio, o material era aspirado, com uma cânula, do seio frontal, por meio de uma bomba Gomco ligada a um tubo de borracha, para dentro de um vidro com tampa de borracha. A seguir, para que a maior parte do exsudato não permanecesse no interior da tubulação, era a cânula aspiradora imersa em um cálice contendo 10 cc de sôro fisiológico estéril, com o que se conseguia acarretar, para dentro do vidro, o exsudato que permanecera estacionado no interior da tubulação.

A tubulação de borracha, cânula e agulha eram esterilizadas por fervura, assim como o espéculo nasal usado. O vidro com tampa de borracha era, primeiramente, esterilizado por fervura e, a seguir, em estufa a 120 graus, por trinta minutos. O vestibulo nasal do paciente era esterilizado com uma solução de mertiolato a 1 por mil.

3) pacientes portadores de infecção sinusal e que não apresentavam exsudato nasal em quantidade apreciável eram puncionados, através do meato inferior, e, colocando-se a cabeça em hiperextensão e levemente inclinada para o lado puncionado, instilava-se, pelo trocarer, 5 cc de sôro fisiológico estéril que eram, a seguir, aspirados. Devemos acrescentar que encontramos grande dificuldade em retirar material por êste processo, sendo que, muitas vezes, a aspiração só era possível parcialmente e, em outros casos, o sôro injetado passava, imediatamente, para o faringe e não era possível aspirar cousa alguma. Acreditamos que esta técnica só era factível em cem por cento dos casos, se collocarmos os pacientes em posição de Tredelemburgo.

4) o grupo de pacientes tido como normal foi obtido de indivíduos que passavam por exames médicos de rotina e que, uma vez aptos, eram enviados ao serviço de ORL, para exame especializado. Esses pacientes eram interrogados quanto a sintomas sinusais presentes ou passados e examinados por rinoscopia anterior e transiluminação. Uma vez comprovada a normalidade, era o muco nasal retirado do meato médio, por alça longa de platina previamente flambada, e imediatamente semeado em meio de ágar-sangue e caldo glicosado e, dentro de uma hora, no máximo, colocado em estufa. O vestibulo nasal era desinfetado com mertiolato a um por mil e cuidados especiais eram tomados para que a alça não tocasse o vestibulo. Quando isso sucedia, a alça era novamente flambada e a manobra repetida.

Não caberá, aqui, crítica das técnicas mais usadas na colheita de material infectado dos sinus ou das fossas nasais, mas acreditamos que os processos por nós usados atendem, em boa parte, os cuidados essenciais de assepsia, de modo a permitir, no máximo possível, um material livre de contaminação.

### 3. Técnica da cultura

Técnica — Chegado o material ao laboratório, era imediatamente semeado em tubos de ágar-sangue, caldo glicosado e meio Brewer, ao qual se juntava sangue desfibrinado de coelho (0,5 ml para cada 10 cc do meio). Usando estes três meios, pensamos que qualquer germe por acaso presente certamente cresceria, fôsse aeróbio ou anaeróbio.

A inclusão do meio Brewer foi motivada pela possível presença de germes anaeróbios ou microaerófilos no exsudato das sinusites fechadas. O caldo glicosado e o ágar-sangue servem como meios de cultura universais apropriados para suportar o crescimento da maioria das bactérias.

A identificação de alguns cocos Gram-positivos foi baseada unicamente em provas morfológicas e ação sobre meios com sangue. A diferenciação do pneumococo foi baseada na fermentação da inulina e solubilidade em bile.

Bacilos Gram-negativos tipo *Haemophilus* foram identificados pelas suas necessidades de fator X e V. No caso de pertencerem ao grupo das Enterobacteriáceas, foram estudadas a morfologia, provas bioquímicas básicas, principalmente produção de urease. Não foi feita nenhuma identificação sorológica.

A identificação dos cocos Gram-negativos foi feita por provas bioquímicas.

As provas de coagulase dos estafilococos foram feitas segundo método de MESQUITA (1944). A hemólise foi verificada em placas de ágar-sangue a 5%.

#### 4. Verificação da sensibilidade aos antibióticos.

Vários são os métodos propostos para verificação da sensibilidade de um microrganismo a um determinado antibiótico. Três são os principais: 1.º) consiste em colocar, numa placa de ágar na qual tenha sido semeado o germe, vários cilindros de vidro ou porcelana, cheios com várias concentrações do antibiótico para o qual se deseja verificar a sensibilidade do germe. Pelas áreas de inibição em tórno dos cilindros, podemos avaliar a sensibilidade do germe ao antibiótico; 2.º) consiste em fazer diluições seriadas do antibiótico num meio de cultura líquido e verificar em que tubo não há crescimento microbiano. Sabendo-se a concentração do antibiótico em cada tubo, será fácil avaliar a sensibilidade do germe; 3.º) consiste em impregnar placas de ágar com várias concentrações do antibiótico e aí semear a cultura em prova e verificar qual a concentração do antibiótico que inibe o crescimento bacteriano.

Modificações desses 3 processos já foram descritas, mas uma prova de sensibilidade feita por qualquer deles envolve um gasto de material muito grande e a necessidade de se ter, sempre, no laboratório, uma série de soluções dos vários antibióticos e de vidraria nem sempre ao alcance de qualquer laboratório.

VINCENT e VINCENT (1944) descreveram um processo de se testar a sensibilidade de um germe à penicilina usando discos de papel de filtro previamente impregnados pelo antibiótico. Segundo os referidos autores, esse processo substitui perfeitamente o método do cilindro e, num grande número de testes comparativos, demonstraram que, avaliando-se as zonas de inibição em tórno dos discos de papel, obtém-se resultados muito mais precisos do que pelo método do cilindro.

A técnica consiste em se fazer uma semeadura do germe a ser testado em uma placa de ágar e colocar, sobre a superfície do meio, vários discos de papel de filtro que foram imersos previamente em várias concentrações de penicilina. Zonas de inibição bem definidas são verificadas em tórno dos discos de papel de filtro. Comparando-se os diâmetros das zonas de inibição com uma curva standard de uma amostra conhecida obtida pelo processo do cilindro, torna-se possível determinar as concentrações de penicilina necessárias para inibir o crescimento de determinada bactéria.

BONDI e colab. (1947), SCOTT (1950) e MC LAURIN e colab. (1951), empregando o método de impregnação em papel de filtro, demonstraram que o processo pode ser usado para testar a sensibilidade de uma bactéria aos seguintes antibióticos: penicilina, aureomicina, terramicina, estreptomina e cloranfenicol.

Nos Estados Unidos da América do Norte, o laboratório Difco já expôs à venda um estojo contendo discos de papel impregnados de antibióticos.

A interpretação da prova varia conforme usamos o método dos autores acima citados ou aquêlé aconselhado pelo laboratório Difco. No primeiro caso, a medida das áreas de inibição em tórno dos discos é que indica a sensibilidade ou resistência da bactéria ao antibiótico, uma vez que o disco de papel contém uma quantidade fixa do antibiótico. No segundo caso, o antibiótico está em três concentrações diferentes, A, B e C. Se houver uma zona de inibição nos discos A, B e C, significará que a bactéria é sensível ao antibiótico. Se esta só aparecer em tórno dos discos B e C, a bactéria é pouco sensível ou de sensibilidade duvidosa. É resistente quando não ocorre inibição em tórno de nenhum dos discos, ou só em volta do disco C.

Iniciamos nossas investigações empregando discos obtidos do laboratório Difco. Como não foi possível obter suprimento regular, fomos obrigados a preparar discos adotando a técnica de BONDI e colab. (1947), SCOTT (1950) e MC LAURIN e colab. (1951). Comparando os resultados em germes previamente testados com material Difco, verificamos que estes se superpuzeram.

#### Resultados :

Como já foi dito, não pretendemos que todos os germes encontrados na secreção sinusal sejam os responsáveis pelo processo infeccioso. Aceitar uma bactéria como responsável pela afecção sinusal é problema que não é fácil de ser resolvido.

SPARREVOHN e BUCH (1946), estudando a bacteriologia das sinusites maxilares, apontam as dificuldades em se obter dados que possam ser comparados. Esses autores, revendo os resultados de vários outros, mostram a grande disparidade dos achados bacteriológicos. Dão grande importância ao achado de uma só bactéria, principalmente se se repetir em exames sucessivos.

GOLDMAN (1950), com o fim de verificar o papel que representam as fossas nasais, os seios e o nasofaringe como focos de infecção, chama a atenção para o problema da interpretação do significado do achado bacteriológico.

Afirma que, para fins diagnósticos, a presença nas fossas nasais de pneumococos, estreptococos hemolíticos, *Streptococcus viridans*, estreptococos não hemolíticos, *Staphylococcus aureus* A, bacilo de Friedländer e *Haemophilus influenzae* indicam, em geral, a presença de uma infecção.

Esses germes, no entanto, podem ser isolados do nasofaringe sem haver, aí, sinais físicos de infecção, parecendo ser este o foco das bactérias patogênicas que podem invadir as fossas nasais e os seios quando o sistema defensivo do organismo for deprimido.



Em apóio a êste ponto de vista, transcreve, em alguns quadros, quais os germes mais encontrados nas fossas nasais e no nasofaringe de indivíduos normais, baseando sua observação nos resultados obtidos em várias localidades dos Estados Unidos.

Analisando êsses quadros, nota-se a predominância de determinada flora nas fossas nasais e no rinofaringe, quase sempre idêntica, não havendo influência da zona onde foi feita a verificação nem da estação do ano.

O nosso material consta de amostras de exsudato obtidas de 45 doentes portadores de formas agudas ou crônicas de sinusites uni ou bilaterais (5 casos) que foram submetidos à intervenção pela técnica de Caldwell-Lue (26 casos), puncionados (5 casos), ou o material obtido por aspiração (19 casos), segundo as técnicas já descritas.

No quadro 1, estão relacionados todos os germes por nós isolados de doentes portadores de afecção sinusal e os encontrados nas fossas nasais de indivíduos normais.

QUADRO 1

Doentes (61 germes) 45 doentes		%	Normais (32 germes) 25 indivíd.	%
Estafilococo hemolítico .....	16	26,6	14	43,7
Estafilococo inerte .....	8	13,3	5	15,6
Hemófilo .....	12	20,0	2	6,2
Pneumococo .....	9	15,0	1	3,1
<i>Streptococcus viridans</i> .....	7	11,6	—	0
Difteróides .....	3	5,0	3	9,4
Coliformes .....	2	3,3	1	3,1
Tetragens .....	1	1,6	—	0
<i>Neisseria flava</i> .....	1	1,6	—	0
<i>Neisseria sicca</i> .....	—	0	2	6,2
<i>Neisseria catarrhalis</i> .....	—	0	2	6,2
Proteus .....	—	0	1	3,1
Estreptococo hemolítico .....	1	1,6	—	0
<i>Klebsiella</i> .....	1	1,6	1	3,1
Culturas puras .....	31		20	
Culturas com 2 germes .....	9		2	
Culturas com 3 germes .....	4		3	
Culturas estéreis .....	4		0	

Se compararmos os achados dos indivíduos portadores de infecções sinusais e dos indivíduos normais, encontraremos uma diferença muito nítida da flora bacteriana de uns e de outros.

Bactérias do grupo hemófilo, pneumococos e estreptococos *viridans* apareceram com muito maior frequência nos indivíduos doentes do que nos normais, o que está de acôrdo com o que foi verificado por GOLDMAN (1950).

Quanto às outras bactérias, com exceção dos estafilococos, o número é muito pequeno para se poder fazer comparações; no entretanto, o achado de uma bactéria cujo "habitat" normal é o tubo intestinal provàvelmente deverá ter uma significação clínica.

Já no caso dos estafilococos, o problema se apresenta de modo diferente, porquanto existem provas feitas "in vitro" relativamente simples para estabelecer se a amostra é ou não virulenta.

Das inúmeras provas descritas, duas são as principais: a prova da hemólise e a da plasmocoagulação, uma vez que as outras, fermentação da manita, coagulação do leite, etc., dão resultados irregulares.

BIER (1932), estudando a prova da hemólise na diferenciação dos estafilococos patogênicos, verificou que, de 30 raças isoladas de focos patogênicos, 26 foram hemolíticas e que, de 33 amostras isoladas da pele (saprófitas), apenas 2 produziram hemólise.

MESQUITA (1944), estudando 167 amostras de estafilococos, verificou que 109 eram plasmocoagulantes, todos êles isolados de focos patológicos comprovados ou do nariz e garganta do pessoal de um hospital em que houve uma epidemia de piodermite. Das 58 amostras não plasmocoagulantes, 57 foram isoladas em condições saprófitas e uma só foi isolada de um foco patológico.

Na verificação de patogenicidade dos estafilococos que isolamos de doentes com afecções sinusais, não nos foi possível realizar a prova de plasmocoagulação em tôdas as amostras; entretanto, a verificação da capacidade hemolítica foi sempre realizada.

Considerando a prova de hemólise como índice de patogenicidade, verificamos que 56,6% dos estafilococos isolados têm essa característica.

Se a êsse número juntarmos duas amostras inertes, mas plasmocoagulantes, teremos 65,2% como possíveis patogênicas.

Usando critério idêntico para estafilococos isolados da fossa nasal de indivíduos normais, encontramos 14 amostras hemolíticas (73,7%) e 5 não hemolíticas (26,3%).

Das 14 amostras hemolíticas, 6 também foram plasmocoagulantes, havendo, portanto, uma concordância de 35,7% entre as duas provas, de onde se conclui, no que diz respeito às fossas nasais e seios, que a presença de um estafilococo hemolítico não indica que haja um processo infeccioso em causa, mostrando, mais uma vez, da dificuldade em concluir se uma determinada bactéria é ou não responsável pela afecção sinusal.

No quadro 2, estão agrupados os resultados das provas de sensibilidade aos vários antibióticos.

QUADRO 2

	Penicilina			Cloranfenicol			Estreptomina			Aureomicina			Terramicina		
	S.	P. S.	R.	S.	P. S.	R.	S.	P. S.	R.	S.	P. S.	R.	S.	P. S.	R.
Estafilococo — n.º testado 24 amostras .....	14	2	8	18	3	3	6	1	4	3	9	1	4	0	0
<i>Streptococcus viridans</i> — n.º testado 7 amostras .....	7	0	0	4	1	2	1	0	1	4	0	1	1	0	0
Hemófilo — n.º testado 12 amostras .....	0	0	12	0	1	11	0	1	2	0	0	8	0	1	2
Pneumococo — n.º testado 9 amostras .....	9	0	0	8	0	1	1	1	2	4	1	0	—	—	—
Coliforme — 2 amostras .....	0	0	2	0	1	1	0	1	1	0	1	0	—	—	—
<i>Neisseria flava</i> — 1 amostra .....	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Diplococo Gram-negat. — 1 amostra .....	0	1	0	1	0	0	—	—	—	—	1	0	—	—	—
Tetragena — 1 amostra .....	0	0	1	1	0	0	—	—	—	0	1	0	—	—	—
Difteróides — 2 amostras .....	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	—	—	—
Estreptococo hemolítico — 1 amostra .....	1	0	0	1	0	0	0	0	1	—	—	—	—	—	—
<i>Klebsiella</i> — 1 amostra .....	0	0	1	0	0	1	—	—	—	0	0	1	—	—	—

Legenda: S., sensível; P.S., pouco sensível; R., resistente.

Por motivos que já foram explicados, não nos foi possível testar todos os germes com os cinco antibióticos mais comumente usados entre nós: penicilina, cloranfenicol, estreptomina, aureomicina e terramicina; com exceção dos dois primeiros, que foram usados em tôdas as provas.

Se considerarmos como possíveis patogênicos somente algumas espécies bacterianas que foram isoladas, seguindo, para isso, o critério adotado por GOLDMAN (1950), verificaremos:

*Streptococcus viridans* (7 amostras) — O antibiótico que deu melhor resultado foi a penicilina, não havendo nenhuma amostra resistente. Com a aureomicina, encontramos 20% de amostras resistentes, estreptomina 50% e cloranfenicol 28,5%, sendo 14,2% pouco sensíveis.

Hemófilos (12 amostras) — Penicilina e aureomicina não agiram. Uma amostra mostrou-se pouco sensível ao cloranfenicol e à estreptomina. Germe quase totalmente resistente aos antibióticos.

Pneumococo (9 amostras) — Tôdas as amostras foram sensíveis à penicilina. Com o cloranfenicol, 1 mostrou-se resistente. Aureomicina: 4 sensíveis e 1 pouco sensível. Estreptomina: 2 resistentes e 1 pouco sensível.

Estafilococos (24 amostras) — Por ter sido o germe mais freqüentemente encontrado e por ser sensível avaliar a sua virulência por provas de laboratório, analisaremos êste grupo com mais detalhes.

O quadro 6 representa a percentagem baseada em virulência e a virulência da amostra estudada.

QUADRO 3

	Penicilina			Cloranfenicol			Estreptomicona			Aureomicina		
	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.
Virulentas (14 am.)	66,6	13,3	20	73,3	13,3	13,3	50,0	16,6	33,3	66,6	22,2	11,1
Avirulentas (10 am.)	50	0	50	87,5	0	12,5	75,0	0	25,0	0	100,0	0

Neste grupo, o antibiótico que se mostrou mais eficiente foi o cloranfenicol; penicilina e aureomicina tiveram a mesma ação, havendo um número menor de amostras resistentes à aureomicina, mas sendo a maioria pouco sensível. A estreptomicona foi a que se mostrou menos eficiente. É interessante verificar que, no grupo das amostras avirulentas, 50% delas foram resistentes à penicilina.

No grupo de indivíduos normais, só o estafilococo foi isolado em número que comporta tirar alguma conclusão. Foram isoladas 19 amostras, sendo 14 virulentas e 5 avirulentas.

QUADRO 4

	Penicilina			Cloranfenicol			Aureomicina		
	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.
Virulentas (14 am.)	71,4	21,4	7,1	100	0	0	78,5	21,4	0
Avirulentas (5 am.)	60,0	20,0	20,0	80,0	0	20,0	40,0	40,0	20,0

Neste grupo, o estafilococo apresentou resistência menor à penicilina do que os do grupo anterior. Aqui também as amostras avirulentas foram mais resistentes à penicilina do que as virulentas.

Quanto aos outros germes encontrados, a sua frequência foi tão baixa que dificulta qualquer conclusão.

#### DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Como já foi explicado neste trabalho, não foi feito qualquer esforço no sentido de se obter comprovação clínica dos resultados dos testes realizados, representando mais um inquérito preliminar sobre o assunto. Todavia, para orientação de futuras investigações no campo da clínica e da terapêutica, é de conveniência discutir estes resultados e procurar uma orientação que permita tirar, sob o ponto de vista prático, conclusões úteis.

Se analisarmos a totalidade dos casos clínicos e os diversos resultados dos testes, vamos verificar que, dos 40 pacientes com culturas positivas, apenas 19 se mostraram sensíveis à penicilina; os restantes, em número de 21, ou mostraram resistência total, no caso de cultura pura, ou, nos casos de culturas mixtas, apresentaram um ou dois germes sensíveis e o outro resistente ou todos resistentes. Isto viria encarecer a necessidade absoluta de ser determinado o agente etiopatogênico em todos os casos de processos inflamatórios sinusais, já que menos da metade, segundo os nossos resultados, se mostrou sensível à penicilina. Na questão das culturas mixtas em que um germe é sensível à penicilina e outro resistente, devemos levar em conta que o antibiótico pode atingir apenas o germe sensível sem que, por isso, o processo inflamatório seja curado. De outra parte, se um dos germes resistentes for um estafilococo, haverá, no foco inflamatório, eventual produção de penicilinase que irá inativar a penicilina, não permitindo a sua ação sobre o outro germe sensível. Assim, nos casos de flora mixta com germes resistentes e sensíveis, há necessidade de se verificar qual deles é o responsável pelo processo inflamatório, se um único ou todos, e agir de acordo com o que determinarem os testes.

A verificação do quadro 1 nos dá, de início, um elemento muito interessante que é o da predominância do estafilococo como o possível agente etiológico nas sinusites.

Analisando o quadro 3, onde estão inscritas as amostras de estafilococos de origem sinusal com prova de virulência positiva, 20% delas são resistentes e 13,3% pouco sensíveis à penicilina, justamente num grupo de cocos Gram-positivos que deveria ser altamente sensível à droga. Prevendo o aumento da resistência deste germe à penicilina de ano para ano, pode-se

supor que, dentro de breve prazo, êste antibiótico seja quase totalmente ineficaz para o estafilococo. Se admitirmos que os outros germes Gram-positivos (estreptococo, pneumococo) continuem sensíveis à penicilina, como pode ser verificado no quadro 2, teremos, dentro de poucos anos, cêrca de 70% de germes resistentes como responsáveis pelos processos sinusais. Daí se pode inferir que a terapêutica antibiótica pela penicilina terá, em futuro não muito remoto, indicações restritas e precisas, no campo das sinusites. A questão da dosagem da penicilina é outro ponto em que, ao que se observa, a orientação não é das mais seguras. Com o aparecimento cada vez maior de formas de sinusites resistentes clinicamente à penicilina, a tendência tem sido de aumentar empiricamente a dosagem da droga sem maiores verificações.

SPINK (1951), estudando a sensibilidade da penicilina em 104 raças de estafilococos, verificou que 44,2% eram sensíveis a meia unidade de penicilina por ml, 43,2% eram resistentes, sendo que, destes, os menos resistentes só eram inibidos no meio de cultura por uma concentração de 62,5 unidades de penicilina por ml, ou seja 125 vezes maior que para os sensíveis. Apenas 12,6% eram pouco sensíveis. Êste fato se verifica também nos nossos casos, em relação ao estafilococo : em 24 amostras (14 sensíveis, 8 resistentes e 2 apenas pouco sensíveis). Se transportássemos isso para o campo da terapêutica, veríamos que enormes doses do antibiótico deveriam ser empregadas para ser tratada uma forma resistente, o que não seria prático e, muitas vezes, inexequível.

O mesmo autor faz notar, de outra parte, que as formas de resistência intermediária são em pequena percentagem, isto é, êste germe, em relação à penicilina, ou se mostra muito sensível, ou extremamente resistente. De outro lado, o aumento indiscriminado da dosagem pode levar a concentração sangüínea a um nível tal que, paradoxalmente, se verifique uma diminuição no valor terapêutico da penicilina.

EAGLE e MUSSELMANN (1948) verificaram, em raças de estreptococos hemolíticos, estafilococos, pneumococos e treponema, que o máximo efeito bactericida e bacteriostático da penicilina se deva em uma concentração definida e que o aumento dessa concentração, mesmo até 32.000 vezes, em metade dos casos não aumentava êsse poder germicida e que, na outra metade, êsse poder era deprimido. Existia, pois, uma zona ótima de concentração do antibiótico. Êste efeito depressor das altas concentrações de penicilina foi particularmente notado nos estreptococos hemolíticos.

Estudando a sensibilidade das outras espécies bacterianas à penicilina, vamos verificar que os outros cocos Gram-positivos (estreptococo e pneumococo) foram uniformemente sensíveis ao antibiótico, o que, aliás, confirma os resultados de outros autores. Seriam germes que não desenvolve-

riam formas resistentes e, como tais, fadados ao desaparecimento pelo uso disseminado da penicilina. É de interesse guardar este fato em mente, para se verificar, futuramente, se a incidência destes germes não cairá progressivamente, cedendo passo aos germes resistentes. Em relação ao hemófilo, vemos que incidiu em 20% das culturas e que se mostrou uniformemente resistente a todos os antibióticos (apenas um caso pouco sensível à estreptomomicina e outro ao cloranfenicol). Em três casos, apareceu em cultura pura. O caso 5 refere-se a uma paciente de 32 anos, que apresentou um quadro agudo de sinusite maxilar extremamente doloroso e com reações gerais (febre, náuseas, mau estado geral) e que, por isso, foi hospitalizada. Imediatamente submetida à penicilino-terapia (400.000 U procaínicas, nas 24 horas) sem nenhuma resposta satisfatória; dentro de 48 horas, a dose foi aumentada para o dobro, associando-se a diidro estreptomomicina 1/2 g, de 12 em 12 horas. Decorridas mais 72 horas, como o quadro geral não se amainasse, passou a paciente a fazer o tratamento clássico de calor (infra-vermelho e ondas curtas) com o que cederam, em parte, os sintomas agudos. Foi, então, realizada uma punção e o material enviado a exame bacteriológico revelou a presença de hemófilo. Esta paciente obteve alta, mas, até a data atual, foi acometida, por duas vezes, de surtos agudos e aguarda oportunidade para ser operada. Este caso revela bem o valor do exame bacteriológico e do teste de sensibilidade para antibiótico na orientação da terapêutica das sinusites.

A incidência relativamente alta do hemófilo nas culturas do exsudato sinusal nos leva a pensar que pelo menos uma quinta parte dos processos sinusais tenha este germe como responsável e que, nestes casos, os antibióticos serão de nenhum efeito, devendo-se recorrer à terapêutica clássica.

Passando-se a analisar os resultados obtidos com a estreptomomicina, que foi feita em 22 germes, verificamos que sua ação se mostrou bastante irregular em relação aos germes mais freqüentes. Em virtude do pequeno número de casos, talvez seja esta a única conclusão a que se possa chegar. Em relação ao *Streptococcus viridans* e pneumococo, verifica-se que a penicilina será um antibiótico muito mais fiel que a estreptomomicina. Frente aos antibióticos, podemos concluir, pelas nossas experiências, que a estreptomomicina deverá ter, no tratamento das sinusites, apenas indicações de exceção.

O cloranfenicol foi o antibiótico que maior número de vezes se mostrou ativo "in vitro", para os germes isolados. O estafilococo foi 3 vezes resistente e 3 vezes pouco sensível, em 24 raças isoladas.

Com os outros cocos Gram-positivos, já não notamos a mesma uniformidade de ação verificada com a penicilina: em 7 *Streptococcus viridans*, 1 resistente e 1 pouco sensível e, em 9 pneumococos, 1 resistente. De um modo geral, pode-se dizer que, entre nós, o cloranfenicol é, no momento, o melhor antibiótico que poderia ser usado sem maiores verificações da flora

e sua sensibilidade a antibióticos nos casos de infecções das cavidades paranasais, de acôrdo com a experiência em curso, dependendo de comprovação clínica.

A aureomicina que foi ensaiada em 33 germes demonstrou resultados bastante inesperados, sobretudo em relação aos estafilococos, onde as formas pouco sensíveis e resistentes incidiam 10 vêzes sôbre 14 raças testadas. O contrário verificou SPINK (1951), que, entre 104 culturas de estafilococos, encontrou apenas uma altamente resistente à aureomicina. Todavia temos a impressão de que um maior número de casos deva ser investigado para se ter uma idéia mais nítida a respeito dêste antibiótico.

A terramicina só nos foi possível ensaiá-la em 13 culturas e demonstrou, em todos os casos, uma atividade integral, com exceção de 4 culturas de hemófilo.

### RESUMO

Os autores, após tecerem considerações gerais sôbre a bacteriologia das fossas nasais e seios paranasais em indivíduos portadores de infecções e normais, chamam a atenção para um fato de verificação clínica diária, qual seja a ocorrência progressivamente mais freqüente de formas agudas ou crônicas de infecções do trato aéreo superior resistentes à penicilina e também a outros antibióticos.

Foi feito um estudo da flora microbiana do exsudato sinusal de 45 pacientes portadores de infecção e de 25 indivíduos clinicamente normais. Isolado o germe em causa, era o mesmo testado para os seguintes antibióticos: penicilina, estreptomina, aureomicina, cloranfenicol e terramicina, no sentido de ser pesquisada a sua sensibilidade em relação a êstes antibióticos. Foi sempre empregada a técnica dos discos impregnados pelo antibiótico. A comprovação clínica dos testes realizados no laboratório não foi feita pelos autores.

O material foi obtido de três maneiras diferentes: por trepanação da parede anterior do seio maxilar no ato cirúrgico; por punção diameática e por aspiração do exsudato diretamente do meato médio. Nos indivíduos normais, foi feita a semeadura direta do muco nasal retirado por alça de platina.

O estudo comparativo da flora dos pacientes com infecção e dos normais revelou uma diferença nítida entre uma e outra. Nos primeiros, predominavam os estafilococos, grupo hemófilo, pneumococos e *Streptococcus viridans*, enquanto nos outros havia preponderância de estafilococos e difteróides, estando os outros germes ausentes.



Testes de sensibilidade em todos os germens foram feitos apenas com a penicilina e o cloranfenicol, sendo que, com os outros antibióticos, apenas parte dos germes foram testados.

O cloranfenicol foi o antibiótico que maior número de vezes se mostrou ativo contra os cocos Gram-positivos. A penicilina, que se revelou uniformemente ativa nos estreptococos e pneumococos, revelou-se ineficaz "in vitro" em grande percentagem dos estafilococos.

### SUMMARY

The authors, after general considerations regarding the bacteriology of the nose and paranasal sinuses in normal and infected patients, emphasize a fact of common verification, which is the progressively frequent occurrence of resistance in acute and chronic infections of the upper respiratory tract to penicillin and other antibiotics.

A culture was made of the sinus exudate of 45 patients with sinusitis and the nasal mucus of 25 clinically normal patients.

The organism found was isolated, identified and submitted to tests of sensitivity to the following antibiotics: penicillin, streptomycin, chloramphenicol, aureomycin and terramycin. Tests were performed by the disk method.

The sinus exudate was obtained in three different ways: 1. from the sinus cavity by trepanation of the anterior wall (Caldwell-Luc); 2. by the puncture of the inferior meatus; 3. by aspiration of the middle meatus. In the normal patients, the mucus was removed from the middle meatus with a platinum wire and planted directly into the medium.

A comparative study between the organisms found in the infected and in the normal patients shows a sharp difference in both floras. In the former there was a predominance of *Staphylococcus*, *Haemophilus*, *Pneumococcus* and *Streptococcus viridans*; in the latter, *Staphylococcus* and difteroides appeared most frequently, with absence of the other organisms.

The sensitivity tests were performed on all the organisms with penicillin and chloramphenicol. With the other antibiotics tests were made in part of the material.

Chloramphenicol presented the greatest activity against the Gram-positive cocci. Penicillin was uniformly active against *Streptococcus* and *Pneumococcus*, but unefective in a great percentage of the staphylococci.

## BIBLIOGRAFIA

- ABRAHAM, E. P. e E. CHAIN — 1940 — An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature* 146: 837.
- BARBER, M. e M. ROZWADOWSKA-DOZWZENKO — 1948 — Infection by penicillin-resistant staphylococci. *Lancet* 2: 641-644.
- BIER, O. — 1932 — Sôbre a diferenciação entre os estafilococos piogênicos e os estafilococos da pele. *Rev. Assoc. Paul. Med.* 1: 415-423.
- BONDI JR., A., E. H. SPAUDING e C. C. DIETZ — 1947 — A routine method for the rapid determination of susceptibility to penicillin and other antibiotics. *Am. J. Med. Sci.* 213: 221-225.
- CARDWEEL, E. P. — 1946 — Penicillin administered locally in treatment of disease of nasal accessory sinus: evaluation of bacterial sensitivity. *Arch. Otoraryngology* 44: 287-297.
- DAVISON, F. W. — 1950 — Antibiotics and sinus infection. *Laryngoscope* 60: 131-141.
- DAVISON, F. W. — 1951 — The use of antibiotics in otolaryngology. *Ann. Otol. Rhin. Laryng.* 60: 207-220.
- DEMEREZ, M. — 1951 — Production of staphylococcus strains resistant to various concentrations of penicillin. Citado por W. W. Spink, *In J.A.M.A.* 37: 278-293.
- EAGLE, H. e A. D. MUZELMANN — 1948 — The rate of bactericidal action of penicillin in vitro as a function of its concentration and its paradoxically reduced activity at high concentration against certain organisms. *J. Exp. Med.* 88: 99-131.
- EDITORIAL — 1951 — Penicillin-resistant staphylococci. *J.A.M.A.* 145: 1268-1269.
- FLEMING, A. — A penicilina e suas aplicações práticas. São Paulo, Ypê, 1947.
- GOLDMAN, J. L. — 1950 — Bacteriology and clinical interpretation of the flora of the nose and naso pharynx in adults. *Ann. Otol. Rhin. Laryng.* 59: 156-165.
- MC LAURIN, A. W., D. M. TUTTLE e P. R. BEARNER — 1951 — Sensitivity of bacteria to chloramphenicol in vitro. *Am. J. Clin. Path.* 21: 189-191.
- MESQUITA, E. P. de — 1944 — Estafilococcias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 4: 1-181.
- MORLEY, D. C. — 1945 — A simple method of testing the sensitivity of wound bacteria to penicillin and sulphathiazole by the use of impregnated blotting paper discs. *J. Path. Bact.* 57: 379-382.
- SCOTT, E. G. — 1950 — Aureomycin sensitivity tested by Bondi disc technic. *Am. J. Clin. Path.* 20: 65-77.
- SPINK, W. W. — 1951 — Clinical and biological significance of penicillin resistant staphylococci including observations with streptomycin, aureomycin, chloramphenicol and terramycin. *J. Lab. Clin. Med.* 37: 278-293.
- SPINK, W. W., W. H. HALL e V. FERRIS — 1945 — Clinical significance of staphylococci with natural or acquire resistance to the sulfamides and to penicillin. *J.A.M.A.* 128: 555-559.
- SPARREVOHN, U. R. e A. BUCH — 1946 — The bacteriology of maxillary sinusitis. *Acta Oto-Laryngologica* 33: 425-436.

TÖRNE, F. — Citado por F. Hansel. Allergy of the nose and paranasal sinuses. St. Louis, C. V. Mosley Co, 1936.

VINCENT, J. G. e H. W. VINCENT — 1944 — Filter paper disc modification of the Oxford cup penicillin determination. *Proc. Soc. Esp. Biol. Med.* 55: 162-164.

WILSON e MILLES — Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. Baltimore, Williams & Wilkins, 1946.

