

EFEITO PÓS-ANTIBIÓTICO DE FLUORQUINOLONAS ISOLADAS E EM ASSOCIAÇÃO COM CEFALOSPORINA SOBRE AMOSTRAS DE *Staphylococcus aureus* DE ORIGEM HUMANA E BOVINA

Maria do Socorro Vieira Pereira

Prof^ª. Adjunta do Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza UFPB - João Pessoa, PB

Maria Regina Macedo-Costa

Bolsista PiBIC, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

Mayra Vieira Pereira Targino

-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

Andreia Vieira Pereira

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia- PPGZ, Universidade Federal de Campina Grande, Patos- PB. Bolsista CNPq

José Pinto Siqueira-Júnior

Prof^ª. Adjunta do Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB

Galba Maria de Campos Takaki

Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais, Departamento de Química, Universidade Católica de Pernambuco, Recife, PE.

Denise Aline Casimiro Bezerra

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia- PPGZ, Universidade Federal de Campina Grande, Patos- PB

Katiuscia Menezes da Silva Lôbo

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia- PPGZ, Universidade Federal de Campina Grande, Patos- PB Bolsista CNPq

RESUMO - O objetivo desta pesquisa foi determinar o efeito pós-antibiótico (EPA) de quatro fluorquinolonas em duas linhagens de *Staphylococcus aureus* de origem bovina e duas de origem humana hospitalar, tratadas com quatro vezes a concentração mínima inibitória durante 1 e 2 horas de exposição. As fluorquinolonas produziram um EPA persistente sobre todas as amostras ensaiadas. A ciprofloxacina e a ofloxacina apresentaram o maior índice de EPA. Em geral, os resultados mostram que o aumento do tempo de exposição está associado com o prolongamento do EPA. A associação ciprofloxacina-cefalexina e ofloxacina-cefalexina em geral, produziu um EPA aditivo, mas não sinérgico. O EPA na maioria dos casos resultou de um aumento de fase lag pós tratamento, seguido de uma rápida divisão celular, o que sugere a recuperação das células que tenham o DNA completamente reparado.

PALAVRAS CHAVE: Efeito pós-antibiótico; Fluorquinolonas; *Staphylococcus aureus*

POST-ANTIBIOTIC EFFECT OF THE FLUOROQUINOLONES ISOLATED AND ASSOCIATED TO CEFALOSPORIN ON SAMPLES OF *Staphylococcus aureus* DERIVED TO BOVINE CATTLE AND HUMAN NOSOCOMIAL.

ABSTRACT - This search aimed to establish the Post-Antibiotic Effect (PAE) of the four fluoroquinolones in two strains of *Staphylococcus aureus* derived to bovine and two of human nosocomial source. The strains were treated with four times the minimal inhibitory concentration exposed during 1 and 2 hours. The fluoroquinolones produced a persistent PAE on all the assayed samples. The ciprofloxacin and the ofloxacin showed the major PAE rate. Generally speaking, the results showed that the increase of the exposition time is associated with prolongation of the PAE. The ciprofloxacin-cefalexin and ofloxacin-cefalexin association, generally speaking, produced the additive PAE, but no synergic. The PAE in the most cases turned in the lag phase post treatment, followed of the rapid cell division, that suggest the recuperation of the cells whose DNA was fully repaired.

KEY-WORDS: Fluoroquinolones; Post-antibiotic effect (PAE); *Staphylococcus aureus*

INTRODUÇÃO

As fluorquinolonas representam uma das melhores classes de agentes antimicrobianos das últimas décadas. O interesse nesses compostos reside principalmente por apresentarem um largo espectro de atividade antimicrobiana sobre bactérias gram-positivas e gram-negativas, toxicidade mínima sobre eucariotos, fácil penetração na maioria das células bacterianas e características farmacocinéticas favoráveis (PEREIRA, 2004; SALGADO et al., 2005).

O uso abusivo e indiscriminado de agentes antimicrobianos na prática clínica humana e veterinária tem um efeito seletivo no surgimento e manutenção de resistência a drogas. Particularmente, em *Staphylococcus aureus* a sua versatilidade no desenvolvimento de resistência a vários agentes antimicrobianos contribui para a sua sobrevivência em ambientes hospitalares e difusão entre os pacientes, como é o caso do *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), penicilinas e cefalosporinas, como também a aminoglicosídeos, lincomicinas, tetraciclinas, rifampicina e mais recentemente a vancomicina (VAN WAMEL et al., 1995; GILESPIE & MCHUGH, 1997; LIU, 1999).

O efeito pós-antibiótico (EPA) é o termo usado para descrever a supressão do crescimento bacteriano que persiste após breve exposição dos microrganismos aos agentes antimicrobianos. O EPA representa um impacto importante na determinação do regime de doses, particularmente a luz do surgimento de microrganismos resistentes aos agentes antimicrobianos convencionais, pois drogas que não demonstram o EPA, podem requerer administração mais freqüente do que aquelas que induzem o EPA (LIKATA et al., 1997).

É difícil a erradicação de bactérias em biofilmes, bem como em abscessos com antibióticos, possivelmente devido a diminuição da taxa de crescimento. Estudos comparativos do EPA de amicacina, imipenem, ofloxacina, rifampicina e vancomicina isoladas e em associações sobre *Staphylococcus epidermidis* em biofilmes, foram relatados por Svensson et al. (1997); os resultados sugerem que o EPA é um parâmetro importante na determinação do efeito do antibiótico sobre essas condições.

Renneberg & Walder (1989), demonstram que a presença do EPA do imipenem, norfloxacina e amicacina sobre *S. aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* pode tornar o antibiótico capaz de ser administrado de forma mais intermitente sem perder a eficácia. Particularmente, o EPA pode ser um importante parâmetro na prevenção do surgimento de resistência a quinolonas (Blondeau, 1999).

Pereira et al. (2004) submeteram Cepas de *Staphylococcus aureus* de origem bovina ao tratamento com quatro fluoquinolonas na concentração subinibitória (1/2 x CMI), para avaliar a influência desses agentes sobre plasmídios. A ciprofloxacina mostrou ser a fluorquinolona

mais eficiente, eliminando marcas de resistência para estreptomicina, tetraciclina, penicilina e cádmio. A norfloxacina e a pefloxacina eliminaram resistência para penicilina e tetraciclina, respectivamente; no entanto, não foi evidenciada a eliminação de plasmídio com ofloxacina.

O objetivo do presente estudo foi determinar a atividade antimicrobiana e o EPA *in vitro* das fluorquinolonas ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina e pefloxacina sobre amostras de *S. aureus* de origem humana e bovina, como também avaliar a influência do tempo de exposição e da associação com cefalosporina na determinação do índice do EPA.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras bacterianas

Foram utilizadas no presente trabalho seis amostras de *S. aureus* de origem animal, isoladas de bovinos saudáveis em fase de lactação, obtidas na região de Patos-PB (Pereira & Siqueira, 1995); e cinco amostras de origem humana, obtidas a partir de pacientes internados no Hospital Universitário “Lauro Wanderley”/UFPB (João Pessoa-PB), caracterizadas fenotipicamente em sensíveis e resistentes a meticilina (Pereira, 1992; Freitas, 1993; Pereira, & Siqueira Jr., 1995).

Determinação da Concentração Mínima Inibitória

Os antibióticos utilizados foram os seguintes: ciprofloxacina (CIP; Bayer Pharme), norfloxacina (NOR; SIGMA), ofloxacina (OFL; SIGMA), pefloxacina (PEF; Lab. Roger Bellon), e cefelaxina (LAFEPE). As soluções estoques foram preparadas em álcool etílico e água destilada esterilizada na proporção 1:1, com exceção da pefloxacina que foi preparada em água destilada esterilizada.

A concentração mínima inibitória (CMI) foi determinada pelo método da diluição em meio líquido (Courvalin, et al., 1985), usando-se concentrações crescentes e dobradas das drogas, que variaram de 0,015625 a 512 µg da droga por ml do meio de cultivo. As amostras de *S. aureus* foram cultivadas em caldo nutritivo (BHI: Brain Heart Infusion – DIFCO); incubadas a 37° C por 18-20 horas e subcultivadas a 37° C em caldo Mueller Hinton (DIFCO) por 1 hora, obtendo-se um inóculo de 10⁵ UFC/ml. Foram distribuídas 1,8 ml da cultura em tubos de hemólise, e em seguida foram adicionados 0,2 ml da solução correspondente a escala de antibióticos.

Os tubos foram agitados vigorosamente e incubados por 24 horas a 37° C. Foi considerada como CMI a menor concentração da droga que inibia completamente o crescimento bacteriano. Como controle da atividade das drogas foi empregada a linhagem ATCC 29213 (National, 1988).

Determinação da Concentração Mínima Bactericida

A determinação da concentração mínima bactericida (CMB) foi realizada conjuntamente com a CMI, utilizando-se o método proposto por Courvalin *et al.* (1985). Após a determinação da CMI, os tubos contendo crescimento visíveis ou não, foram agitados vigorosamente, e a seguir 0,01 ml do cultivo de cada tubo foi transferido para placas de Petri contendo o meio Mueller-Hinton sólido e as placas foram então incubadas a 37° C por 18-24 horas.

Após este período, foi determinado o número de colônias por placa e calculada a concentração bactericida mínima. A CMB foi definida como a menor concentração do antibiótico que apresentou 0,1 ou 0,01% de bactérias sobreviventes.

Determinação do efeito pós-antibiótico

O efeito pós-antibiótico foi determinado utilizando-se o método proposto por Craig & Gudmundson (1991). As amostras de *S. aureus* foram inoculadas em caldo nutritivo (BHI) incubadas a 37° C por 18-20 horas e subcultivadas a 37° C em caldo Mueller Hinton por 1 hora, obtendo-se um inóculo de 10⁶ UFC/ml. A 9 ml da cultura bacteriana foi adicionado 1 ml da solução de antibiótico isolado e em associação com cefalexina na concentração 4 vezes maior que a CMI e aos tubos controles foram adicionados 1 ml de água destilada esterilizada. Após 2 horas de incubação a 37° C, a atividade do antibiótico foi neutralizada por uma diluição 1:100, em caldo Mueller-Hinton. A contagem de células viáveis neste tubo, foi determinada e designada como o tempo 0 para a determinação do EPA.

O recrescimento da cultura foi monitorado a cada hora, por um período de 6 horas, pelo método padrão de contagem em placas. A leitura das placas foi efetuada após incubação por 24 horas a 37° C. Os experimentos foram realizados em duplicata. Tubos controles da cultura contendo o antibiótico na concentração de 1: 100, foram incluídos ao experimento, para assegurar que o nível sub-inibitório de antibiótico residual não afeta a taxa de crescimento.

Os resultados foram lançados em gráficos, a partir dos quais se calculou o T e o C (por interpolação). O índice do EPA foi calculado de acordo com a equação $EPA = T - C$, onde, T é o tempo requerido para que a contagem de células viáveis (UFC/ ml) da cultura tratada aumente 1 log 10 sobre a contagem observada imediatamente após a diluição. C é o tempo requerido para

que a cultura controle aumente 1 log 10 nas mesmas condições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o alarmante índice de difusão e desenvolvimento de resistência a drogas entre importantes patógenos como *S. aureus* são necessários estudos sobre a concentração mínima inibitória, concentração bactericida mínima, correlacionadas a determinação do EPA; a ação conjunta desses parâmetros pode resultar no uso mais eficiente do agente antimicrobiano.

As tabelas 1 e 2 mostram um estudo comparativo das atividades (em termos de CMI e CMB) de ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina e pefloxacina sobre amostras de *S. aureus* humanas e bovinas.

No presente estudo todas as amostras humanas são susceptíveis a ciprofloxacina. Das cinco amostras estudadas uma apresentou resistência a norfloxacina e a pefloxacina. Segundo Barry & Fuchs, (1991), em *S. aureus* não ocorre resistência cruzada entre as fluorquinolonas e metilina ou oxacilina. Isolados clínicos de *S. aureus* sensíveis a metilina (MSSA) e *Staphylococcus saprophyticus* foram avaliados com relação a atividade bacteriostática e bactericida por Campos-Takaki (1992) os resultados indicaram que a maioria das amostras são sensíveis às mesmas fluorquinolonas ensaiadas neste estudo. Linhagens de *S. epidermidis* sensíveis e resistentes a metilina foram muito susceptíveis a fleroxacina, uma quinolona trifluorinada; no entanto, as linhagens MRSA não foram susceptíveis ao antimicrobiano (McCARTER, 1992).

Neste estudo foi possível avaliar a eficácia das fluorquinolonas sobre amostras de *S. aureus* de origem bovina. Todas as amostras foram susceptíveis a ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina e a pefloxacina.

Ensaio realizado anteriormente com essas amostras demonstram baixa frequência de resistência múltipla a antibióticos, sendo freqüente em tais amostras resistência a penicilina e estreptomicina, o que reflete uma resposta adaptativa relacionada às peculiaridades das pressões ambientais locais, sendo estes os antibióticos de escolha na terapêutica em bovinos, na região onde foram coletadas as amostras (PEREIRA & SIQUEIRA Jr., 1995) outros autores também verificaram a baixa frequência de resistência múltipla em amostras bovinas (ARAÚJO, 1985; DOMINGUES, 1986).

Tabela 1 – Atividade bacteriostática (CMI) e bactericida (CMB) de 4 fluorquinolonas em amostras de *Staphylococcus aureus* de origem humana (hospitalar)

AMOSTRAS	ANTIBIÓTICOS	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)
S. aureus (MSSA)			
01H	Ciprofloxacina	2	4
	Norfloxacina	8	16
	Ofloxacina	1	1
	Pefloxacina	2	2
117	Ciprofloxacina	1	2
	Norfloxacina	2	4
	Ofloxacina	1	1
	Pefloxacina	1	4
184cc	Ciprofloxacina	2	4
	Norfloxacina	16	32
	Ofloxacina	2	2
	Pefloxacina	8	16
S. aureus (MRSA)			
10cc	Ciprofloxacina	1	2
	Norfloxacina	2	4
	Ofloxacina	1	1
	Pefloxacina	1	2
189cc	Ciprofloxacina	2	4
	Norfloxacina	4	4
	Ofloxacina	2	2
	Pefloxacina	2	2

Sítio – ferida cirúrgica

Tabela 2 – Atividade bacteriostática (CMI) e bactericida (CMB) de 4 fluorquinolonas em amostras de *Staphylococcus aureus* de origem bovina

AMOSTRAS	ANTIBIÓTICOS	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)
114u	Ciprofloxacina	1	2
	Norfloxacina	2	4
	Ofloxacina	0,5	2
	Pefloxacina	1	2
122u	Ciprofloxacina	1	1
	Norfloxacina	4	4
	Ofloxacina	0,5	1
	Pefloxacina	1	2
223u	Ciprofloxacina	2	4
	Norfloxacina	1	2
	Ofloxacina	1	2
	Pefloxacina	2	4
233FN	Ciprofloxacina	1	2
	Norfloxacina	4	8
	Ofloxacina	1	2
	Pefloxacina	1	2
311FN	Ciprofloxacina	1	2
	Norfloxacina	4	8
	Ofloxacina	1	2
	Pefloxacina	1	2
319u	Ciprofloxacina	1	2
	Norfloxacina	2	4
	Ofloxacina	1	2
	Pefloxacina	1	2

FN – fossa nasal U – úbere

O efeito pós-antibiótico é um dos mais importantes e melhor parâmetro farmacodinâmico conhecido. Esse efeito tem sido demonstrado como uma característica da maioria dos agentes antimicrobianos sobre uma variedade de patógenos bacterianos (ZHANEL & CRAIG, 1994); no entanto, poucos trabalhos existem para a determinação do EPA sobre linhagens de *S. aureus* de origem animal. Os estudos de Owens *et al.*, (1993), demonstraram que o EPA pode ter uma importante consideração na determinação de intervalos de doses para o tratamento da mastite bovina.

Embora o mecanismo exato que conduz ao EPA não tenha ainda sido esclarecido, esse efeito pode estar relacionado ao reparo do efeito tóxico e danos subletais induzidos pelo agente antimicrobiano. Vários

fatores influenciam na presença ou duração do EPA, tais como o tipo do organismo, a classe e concentração do antimicrobiano, a duração do tempo de exposição ao antibiótico, associação de antimicrobianos entre outros (BUSH *et al.*, 1989; CRAIG & GUDMUNDSSON, 1991).

Os resultados indicam que as fluorquinolonas induzem um EPA persistente sobre todas as amostras de *S. aureus* ensaiadas, conforme demonstrados na tabela 3. A ciprofloxacina e a ofloxacina apresentaram os maiores índices de EPA, de 2,52 a 2,92h, respectivamente, nas amostras humanas e bovinas. A norfloxacina apresentou um índice de EPA variando em torno de 0,68 – 2,4h, a pefloxacina apresentou o menor índice do EPA, o EPA variou de 0,80 a 1,44h.

Tabela 3 – Influência do tempo de exposição sobre o efeito pós-antibiótico (EPA) de fluorquinolonas sobre amostras de *Staphylococcus aureus* de origem humana hospitalar e bovina

ANTIBIÓTICO	TEMPO DE EXPOSIÇÃO (h)	EPA (h)			
		<i>S. aureus</i> humanas		<i>S. aureus</i> bovinas	
		01H	189cc	311FN	319u
Ciprofloxacina	1	1,64	1,52	1,64	1,52
	2	2,52	2,0	1,16	1,76
Norfloxacina	1	1,48	1,4	1,88	0,68
	2	1,60	1,52	1,48	2,4
Ofloxacina	1	2,52	1,6	1,16	1,72
	2	2,92	1,44	1,28	1,64
Pefloxacina	1	1,12	1,4	0,80	0,80
	2	1,44	1,44	1,28	1,8

Em geral, os resultados mostram que o aumento no tempo de exposição está associado com o prolongamento do EPA. Estudos realizados por Zucarelli *et al.* (1988a), com ciprofloxacina, ofloxacina e pefloxacina demonstram um prolongamento do EPA, após 2 horas de exposição sobre duas linhagens de *Streptococcus faecalis*.

Em estudos comparativos Fursted (1997) demonstrou o impacto de vários fatores influenciando a duração do EPA de alguns agentes antimicrobianos sobre *S. aureus* e *E. coli* inclusive ciprofloxacina, observou um prolongamento do EPA com variação de temperatura, pH do meio, e altas concentrações de cloreto de sódio. Esses resultados indicam que muitos fatores têm um profundo efeito sobre a duração do EPA, provavelmente interferindo com o processo de recuperação celular.

A utilização da associação é freqüentemente empregada na prática clínica e continua a ser avaliada pela capacidade de suprimir o aparecimento de mutantes resistentes, e produzir um EPA sinérgico *in vivo*. Adicionalmente, um outro propósito poderia ser a diminuição da quantidade de doses dos agentes

individuais, o que possivelmente resultaria na redução dos custos e do risco de toxicidade. Efeito pós-antibiótico sinérgico de imipinem associado a amicacina e vancomicina, tem sido reportado em culturas de *S. epidermidis* (SVENSSON *et al.*, 1997).

Estudos *in vitro* foram realizados por Gudmundsson *et al.* (1991) para a determinação do EPA de β -lactâmicos, aminoglicosídeos, rifampicina e ciprofloxacina isoladas e em associação sobre diversas bactérias; os resultados com *S. aureus* sugerem que combinações antimicrobianas, afetaram o EPA de maneira aditiva, comparada com o EPA induzido após a bactéria ser exposta a drogas isoladas.

De modo geral, a adição de cefalexina na concentração de 4 x CMI a ciprofloxacina e ofloxacina aumentou o índice de EPA nas amostras de *S. aureus* ensaiadas em torno de 1,92 – 3,0h e 1,28 – 3,6h, respectivamente, com exceção da amostra de *S. aureus* humana hospitalar resistente a metilina (MRSA), na qual o índice do EPA foi em torno de 1,76 – 1,28h para ciprofloxacina-cefalexina e ofloxacina-cefalexina, índice inferior ao EPA das drogas isoladas (tabela 4).

Tabela 4 – Efeito pós-antibiótico (EPA) de ciprofloxacina e ofloxacina isoladas e em associação com cefalexina sobre amostras de *Staphylococcus aureus* de origem humana hospitalar e bovina

Antibiótico 4 x CMI – 2h de Exposição	EPA (h)							
	01H	<i>S. aureus</i> humanas			<i>S. aureus</i> bovinas			
		Δ^a	189cc	Δ^a	311FN	Δ^a	319u	Δ^a
Ciprofloxacina	2,52		2,0		1,16		2,16	
Cefalexina	0,72		0,48		0,68		0,84	
Ciprofloxacina + Cefalexina	3,0	0,48	1,76	-0,24	1,92	0,76	2,68	0,52
Ofloxacina	2,92		1,44		1,28		1,64	
Cefalexina	0,72		0,48		0,68		0,84	
Ofloxacina + Cefalexina	3,6	0,68	1,28	-0,16	2,2	0,92	2,76	1,12

Δ^a = Indica a diferença (em h) entre o EPA resultante da associação microbiana e o EPA induzido pela fluorquinolona isolada.

Os resultados demonstram que a influência da associação das fluorquinolonas ensaiadas com cefalexina no EPA foi aditiva, nas amostras de *S. aureus* sensíveis a meticilina, porém não observou-se um efeito sinérgico. Esse efeito aditivo, pode refletir o tempo necessário para ocorrer a recuperação celular ou reparo ou a necessidade de sintetizar novas PBPs (proteínas fixadoras de penicilina) ou ainda, alternativamente refletir o tempo necessário para ocorrer a reorganização da parede ou membrana celular após danos não letais induzidos pelas drogas (FUURSTED, 1997).

Neste trabalho a combinação ciprofloxacina-cefalexina e ofloxacina-cefalexina produziu um EPA indiferente, na única amostra de *S. aureus* resistente a meticilina, sugerindo que essa interação farmacodinâmica varia para cada combinação agente antimicrobiano-microorganismo. Fu *et al.*, (1995), em estudo comparativo, demonstraram que levofloxacina (isômero óptico de ofloxacina), e ciprofloxacina induzem a um EPA maior que 1,3h sobre linhagens de *S. aureus* sensíveis a meticilina, e um EPA de 0,84h, para linhagens de *S. aureus* resistente a meticilina.

Likata, *et al.*, (1996) demonstraram que levofloxacina apresentou um EPA de 0,16h superior ao observado para ciprofloxacina, tanto nas linhagens MSSA quanto nas MRSA. Daptomicina, antibiótico lipopeptídico exibiu em geral EPA, isolado e em combinação com gentamicina, exceto para uma linhagem de MSSA, na qual nafcilina e vancomicina produziram maior EPA (BUSH, *et al.*, 1989).

As amostras de *S. aureus* ressuspensas em meio livre de antibiótico após tratamento com 1 e 2 horas de exposição, exibiram extensa fase lag para reiniciar o crescimento bacteriano, conforme demonstrado na figura 1. Os resultados sugerem que durante o processo de recuperação celular na fase lag pós-tratamento está ocorrendo o reparo do DNA; aparentemente ocorre uma rápida divisão celular desde que as células sejam capazes de se replicarem, assim, o EPA na maioria dos casos resultou de um aumento da fase lag pós-tratamento que pode ser seguida de uma multiplicação celular normal ou por uma rápida divisão celular, com o tempo de geração das culturas tratadas mais curto do que o das culturas controles (tabelas 5 e 6).

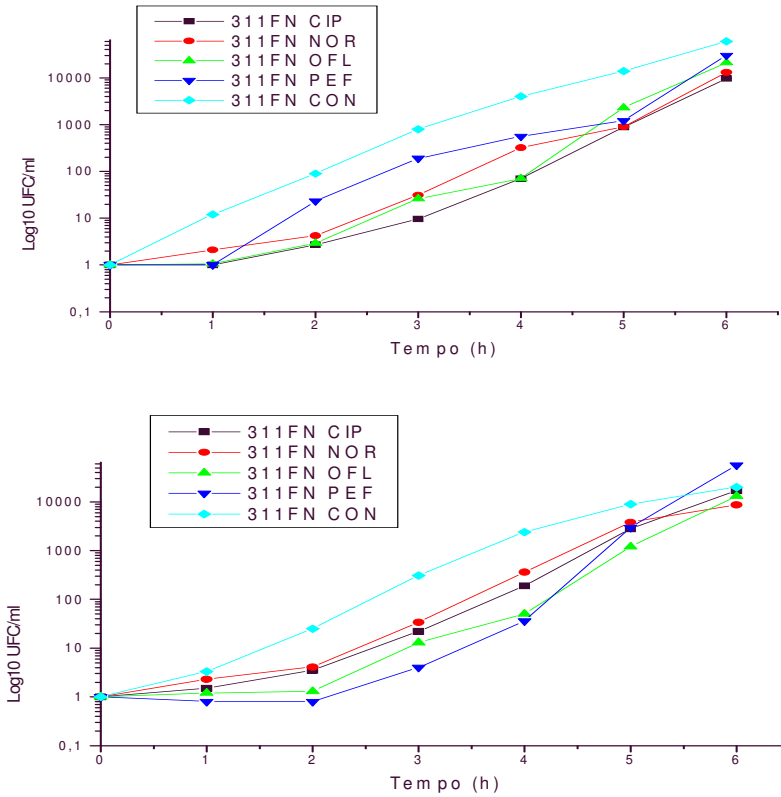


Figura 1. Efeito pós-antibiótico (EPA) das fluorquinolonas, ciprofloxacina - CIP, norfloxacina - NOR, ofloxacina -OFL e pefloxacina - PEF, 4 x CMI por 1 e 2h de exposição, respectivamente, sobre a amostra de *Staphylococcus aureus* 311FN. CON – controle, sem antibiótico.

Tabela 5 – Influência do EPA de quatro fluorquinolonas na velocidade de crescimento ($\mu\text{Max.h}^{-1}$) e tempo de geração (Tg) em amostras de *Staphylococcus aureus* de origem humana hospitalar.

ANTIBIÓTICOS	TEMPO DE EXPOSIÇÃO (h)	Ação das fluorquinolonas/Velocidade de crescimento/Tempo de geração <i>S. aureus</i>			
		01H		189cc	
		$\mu\text{Max.h}^{-1}$	Tg	$\mu\text{Max.h}^{-1}$	Tg
Ciprofloxacina	1	1,10	0,63	0,95	0,73
	2	0,97	0,71	1,05	0,66
Norfloxacina	1	0,85	0,81	0,95	0,73
	2	0,70	0,98	1,15	0,60
Ofloxacina	1	0,95	0,73	0,81	0,85
	2	0,77	0,90	0,95	0,73
Pefloxacina	1	0,95	0,73	0,90	0,77
	2	1,15	0,60	0,60	1,15
* Controle	1	0,60	1,15	0,65	1,06
	2	0,55	1,25	0,50	1,38

* Recrescimento sem a presença do antibiótico

Tabela 6 – Influência do EPA de quatro fluorquinolonas na velocidade de crescimento ($\mu\text{Max.h}^{-1}$) e tempo de geração (Tg) em amostras de *Staphylococcus aureus* de origem bovina.

ANTIBIÓTICOS	TEMPO DE EXPOSIÇÃO (h)	Ação das fluorquinolonas/Velocidade de crescimento/Tempo de geração <i>S. aureus</i>			
		311FN		319u	
		$\mu\text{Max.h}^{-1}$	Tg	$\mu\text{Max.h}^{-1}$	Tg
Ciprofloxacina	1	1,07	0,64	0,75	0,92
	2	0,95	0,73	0,80	1,86
Norfloxacina	1	0,80	0,86	0,60	1,15
	2	0,70	0,98	0,58	1,2
Ofloxacina	1	1,23	0,56	0,74	0,93
	2	1,20	0,57	1,13	0,93
Pefloxacina	1	0,90	0,77	0,95	0,73
	2	1,6	0,43	0,70	0,98
* Controle	1	0,60	1,15	0,65	1,06
	2	0,55	1,25	0,65	1,06

* Recrescimento sem a presença do antibiótico

Howard *et al.*, (1993a,b), demonstraram que o EPA de ciprofloxacina e ofloxacina sobre *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Klebsiella pneumoniae* embora persistente, a resposta ao dano no DNA induzido por 4-quinolonas é multifacetada e dependente da espécie. 4-quinolonas inibem a replicação e divisão celular, enquanto ao mesmo tempo estimula as vias de reparo do DNA, o EPA resultou da combinação da inibição do crescimento, que diminui a divisão celular e reparo do DNA no período de recuperação celular, o que leva as células tratadas a se dividirem mais rapidamente quando comparadas às culturas controles.

CONCLUSÕES

Os achados deste estudo mostram que as fluorquinolonas produzem um significativo EPA sobre as amostras de *S. aureus* aqui estudadas, e vários fatores podem influenciar a determinação do EPA. Um efeito favorável foi demonstrado pela associação ofloxacina-cefalexina ou ciprofloxacina-cefalexina. Neste contexto, a otimização do uso de antibióticos baseado em princípios farmacodinâmicos tem importantes implicações na conduta da antibioticoterapia contribuindo para a diminuição do surgimento de resistência a antibióticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, M. L. C., 1985. *Staphylococcus aureus*: frequência de isolamento do úbere de bovinos em lactação, aparentemente sadios. Universidade de São Paulo, São Paulo, 134p. (Tese de Doutorado).

BARRY, A L., FUCHS, P. C., 1991. Antistaphylococcal activity of temafloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin and enoxacin. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 28: 695-699.

BLONDEAU, J. M., 1999. Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review. *Clinical Therapeutics*, 21(1): 3 – 40.

BUSH, L. M., BOSCIA, J. A., WENDELER, M., PITSAKIS, P. G., & KAYE, D. 1989. *in vitro* postantibiotic effect of daptomycin (LY 146032) against *Enterococcus faecalis* and methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33:1198-1200.

CAMPOS-TAKAKI, G. M., 1992. *Atividade in vitro das fluorquinolonas pefloxacina, ofloxacina, ciprofloxacina e norfloxacina sobre Staphylococcus aureus e Staphylococcus saprophyticus*. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 107 p. (Tese Concurso de Professor Titular).

COURVALIN, P., GOLDSTEIN, F., PHILIPPON, A., & SIROT, J., 1985. *L'antibiogramme*, Ed. MPC – Videom, Paris, France.

COUTURIER, M., BAHASSI, E. M. & VAN MELDEREN, L., 1998. Bacterial death by DNA gyrase poisoning. *Trends in Microbiology*, 6 (7): 269-275.

CRAIG, W. A. & GUDMUNDSSON, S., 1991. *The postantibiotic effect*. In: Lorian, V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore, 3ed. Editora Williams & Wilkins. p.: 403-431.

FREITAS, F.I.S., 1993. *Caracterização fenotípica de amostras hospitalares de Staphylococcus aureus isoladas no Estado da Paraíba*. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 54 p. (Dissertação de Mestrado).

FUURSTED, K., 1997. Postexposure factors influencing the duration of postantibiotic effect: significance of

- temperature, pH, cations, and oxygen tension. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 41(8): 1693-1696.
- GILLESPIE, S. H. & MCHUGH, T. D., 1997. The biological cost of antimicrobial resistance. *Trends in Microbiology*, 5(9): 337-338.
- GUDMUNDSSON, S., ERLENDSDÓTTIR, H., GOTTFREDSSON, M. & GUDMUNDSSON, A. 1991. The postantibiotic effect induced by antimicrobial combinations. *Scandinavian Journal Infections Diseases*, 74: 80-93.
- HOWARD, B. M. A., PINEY, R. J. & SMITH, J. T., 1993a. Contributions of post-antibiotic lag and repair-recovery to the post-antibiotic effects of ciprofloxacin on *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Chemotherapy*, 39: 22-31.
- HOWARD, B. M. A., PINNEY, R. J. & SMITH, J. T. 1993b. Post-antibiotic effects of ofloxacin on *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus pyogenes*. *Chemotherapy* 39: 265-271.
- LIKATA, L.; SMITH, C. E.; GOLDSCHMIDT, R. M.; BARRETT, J. F. & FROSCO, M., 1997. Comparison of the postantibiotic and postantibiotic sub-mic effects of levofloxacin and ciprofloxacin on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 41(5): 950-955.
- LIU, H. H., 1999. Antibiotic resistance in bacteria: a current and future problem. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 455: 387 – 396.
- MACARTER, Y. S., 1992. The comparative activity of fleroxacin, three other quinolones and eight unrelated antimicrobial agents. *Chemotherapy*, 38: 308-318.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDART, 1988. *Methods for dilution antimicrobial Susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. 2 ed. Tentative Standart. NCCLS Document M7 – T2, V.8, n.8. Villa Nova Pa, National Committee for Clinical Laboratory Standart.
- OWENS, W. E., WASHBURN, P. J. & RAY, C. H., 1993. The postantibiotic effect to selected antibiotics on *Staphylococcus aureus* Newbould 305 from bovine intramammary infection. *Journal of Veterinary Medical*, 40: 603 – 608.
- PEREIRA, M. S. V. & SIQUEIRA Jr., J. P., 1995. Antimicrobial drug resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from cattle in Brazil. *Letters in Applied Microbiology*, 20: 391-395.
- PEREIRA, M. S. V., 1992. *Alguns aspectos genéticos da resistência a drogas em amostras bovinas de Staphylococcus aureus isoladas no Estado da Paraíba*. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 122 p. (Dissertação de Mestrado).
- PHILLIPS, I, CULEBRAS, E., MORENO, F. & BAQUERO, F., 1987. Induction of the SOS response by new 4-quinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 20: 631-638.
- RENNEBERG, J. & WALDER, M., 1989. Postantibiotic effects of imipinem, norfloxacin, and amikacin *in vitro* e *in vivo*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33: 1714 - 1720.
- SVENSSON, E., HANBERGER, H., & NILSSON, L. E., 1997. Pharmacodynamic effects of antibiotics and antibiotic combinations on growing and nongrowing *Staphylococcus epidermidis* cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(1): 107-111.
- VAN WAMEL, W. J. B., FLUIT, AD C., WADSTROM T., VAN DIJK, H., VERHOEF, J. & VANDENBROUCKE-GRAULS, C. M. J. E., 1995. Phenotypic characterization of epidemic versus sporadic strains of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(7): 1769-1774.
- ZHANEL, G. G. & CRAIG, W. A., 1994. Pharmacokinetic contributions to post-antibiotic effects. *Clinical pharmacokinetic concepts*, 27(5): 377-392.
- ZUCCARELLI, M., SIMEON DE BUOCHBERG, M., MAILLOLS, H., DUSART, G., ATTISSO, M. A., 1988a. Effet post-antibiotique de la ciprofloxacin seule et en association sur *Streptococcus faecalis*. *Pathologie et Biologie*, 36(5): 410 - 413.
- ZUCCARELLI, M., 1988b. *Pefloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin spectre d'activite, etude particuliere de leur pouvoir bactericide seules et en association sur les streptocoques du group D, persistance et effet post-antibiotique*. Universidade de Montpellier - Faculté de Pharmacie, France, 220 p. (Tese de Doutorado).