



DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA OSTEOMIELEITE CAUSADA POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA EM PACIENTE SKATISTA: RELATO DE EXPERIÊNCIA

FILIPPE SANT'ANA; CAROLINE CHRISTOFF; ISABELA LUÍSA MOREIRA; SAMIR FARHAT HACH; AUGUSTO ALMEIDA DA CRUZ

RESUMO

A osteomielite é uma condição médica grave caracterizada por infecção ou inflamação óssea, frequentemente causada por bactérias como *Staphylococcus aureus*. Este relato de experiência mostra a importância de entender o mecanismo de ação desta bactéria e como é feito todo o processo de diagnóstico do patógeno da osteomielite em um caso hipotético apresentado em sala de aula. O caso fictício apresentado de JS, um skatista de 25 anos, que supostamente desenvolveu osteomielite após um acidente durante a prática de skate. O diagnóstico microbiológico revelou a presença de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), confirmado por testes de coloração de Gram, catalase, coagulase e antibiograma. O tratamento indicado ao caso seria iniciado empiricamente iniciado com oxacilina até que o resultado dos testes fosse recebido. Assim que foi revelado que a bactéria responsável pela infecção era o MRSA, a medicação deveria ser substituída por vancomicina endovenosa, além de outras medidas higiênicas para conter a infecção.

Palavras-chave: Osteomielite; *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina; Antibiograma; Tratamento; Diagnóstico.

1 INTRODUÇÃO

A osteomielite é uma infecção que atinge os ossos que pode ser causada por diferentes patógenos, sendo o *Staphylococcus Aureus* Resistente à Meticilina (MRSA) o organismo mais comum nos EUA (URISH; JAMES, 2021; BURY et al., 2021) junto ao *Staphylococcus Aureus* sensível à Meticilina. O *Staphylococcus Aureus* é uma bactéria Gram-positiva em forma de esferas (cocos) que fazem parte da microbiota da pele. Quando em contato com partes do corpo, que não a pele, pode se proliferar e causar infecções no local lesionado.

São três formas de adquirir a osteomielite de forma crônica, sendo uma delas causada por trauma ou contaminação devido a procedimentos cirúrgicos (URISH; JAMES, 2021). Outras formas de manifestação da doença podem ser devido à insuficiência vascular ou uma neuropatia local, como úlceras supurativas, e outra manifestação, que afeta geralmente pacientes pediátricos, é chamada de osteomielite hematogênica aguda, que se trata de uma forma mais branda da doença.

Um quadro de osteomielite é caracterizado por dores nos membros afetados, vermelhidão, edema e calor local, febre, fadiga, mal-estar e úlceras supurativas. O diagnóstico definitivo é comumente feito através do exame microbiológico cultural em conjunto com exame de ressonância magnética no membro afetado. O tratamento indicado para osteomielite causada por MRSA, o antibiótico de escolha é a Vancomicina endovenosa (URISH; JAMES, 2021; BURY et al., 2021; SPHAIL; LATIF, 2017), além de realizar outras medidas higiênicas para conter a infecção, como oxigenoterapia, cirurgia de drenagem dos abscessos e de necroses.

Esta doença, se não tratada adequadamente, pode causar amputação aos membros afetados, sepsis ou até mesmo óbito.

Conhecendo esta doença, apresenta-se um caso clínico que tem o diagnóstico provável de osteomielite, causado por MRSA. Este artigo tem por objetivo detalhar a melhor forma para tratar a doença baseando-se na literatura disponível, realizar os testes com as amostras em laboratório, detalhando-os, para confirmar o diagnóstico a fim, também, de entender como são feitos e o tempo e cuidado que são necessários para executar os testes. É importante ressaltar que este estudo é conduzido em um contexto acadêmico e não envolve a coleta ou análise de dados de pacientes reais. Todas as informações apresentadas são hipotéticas e têm como objetivo educativo e de pesquisa.

2 RELATO DE EXPERIÊNCIA

O paciente fictício, denominado JS para fins deste estudo, é descrito como sexo masculino, 25 anos de idade, praticante regular de skate. Durante a prática de skate, JS supostamente sofreu um pequeno acidente na região da perna. Embora tenha recebido tratamento inicial com medicamentos tópicos, o quadro clínico evoluiu para sintomas clinicamente compatíveis com osteomielite. O caso de JS e os eventos descritos são fictícios e foram criados para fins educacionais e de pesquisa, não representando um caso real de osteomielite.

Diante da gravidade do caso, a atitude mais prudente seria internar o paciente para acompanhá-lo de mais perto o desenvolvimento da doença e a eficácia do tratamento. Ao receber o paciente, primeiramente, deve-se pedir urgência nos resultados de coloração Gram para identificar o agente patogênico, para um tratamento medicamentoso direcionado.

A coloração de Gram, tem a função de classificar, via bacterioscopia as bactérias Gram-positivas, que após aplicar alguns corantes, ficam roxas, segregando-as das bactérias Gram-negativas, que ao observar em microscópio de imersão ficam vermelhas. Essa técnica desenvolvida em 1882 por Hans Cristian Joaquim Gram, ajuda até hoje a diferenciar estes dois grupos de bactérias, direcionando o tratamento do paciente de forma mais adequada ao patógeno estudado, com um custo muito baixo e de rápido resultado (TRIPATHI; SAPRA, 2023).

Além de amostras para a coloração de Gram, devem ser coletadas amostras para cultura antibiograma. Para coletar tanto as amostras para a coloração de Gram, quanto as amostras para o antibiograma, são utilizados Swabs, os quais são esfregados na secreção da ferida do paciente, em seguida armazenam-se as amostras em tubos de ensaio estéril.

Diante da suspeita de *Staphylococcus Aureus*, os ambientes de cultura mais indicados são o Ágar Sangue e o Macconkey. A cultura Agar Sangue é devido ao fato de conter sangue animal, que serve de nutrientes para o crescimento das bactérias Gram positivas (SIMÕES et al.; 2013; TEGEGNE, 2017). As bactérias consomem os nutrientes dos eritrócitos realizando hemólise. Dependendo da capacidade da bactéria destruir as células sanguíneas, vai definir sua classificação. Dessa forma, pode-se definir se a bactéria é Alfa, Beta ou Gama hemolítica. Bactérias Beta-hemolíticas fazem a hemólise total, ou seja, a colônia fica esbranquiçada e bem clara de defini-la, já as colônias Gama-hemolíticas não fazem nenhuma hemólise, não ocorrendo nada. E a terceira classificação, Alfa-hemolítico dependendo dessa subclassificação ficaria ainda mais claro qual medicamento aplicar ao paciente.

Já a Cultura Macconkey é utilizada para cultura de bactérias Gram negativas. Esse meio de cultura contém cristal violeta e sais biliares, que inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas, permitindo o crescimento seletivo de bactérias Gram-negativas. Ele é utilizado, principalmente, em culturas de urina, fezes, feridas e secreções (KIM et al., 2021).

Para realizar a semeadura destes dois meios de cultura em placas de Petri, foi utilizado alças de inoculação para coletar o material bacteriano do Swab. Em seguida com a técnica de

Estria simples, que consiste em realizar primeiro uma linha reta em todo o diâmetro da placa e em seguida realizar zig-zag, tentando cobrir toda a extensão da área exposta do meio de cultura (CÂMARA, 2023). Após fechar este recipiente, deixá-lo entre 24 e 48 horas em uma estufa à 37°C para acelerar a proliferação das bactérias.

Após o crescimento das colônias bacterianas, o primeiro fator a ser observado é o aspecto que a colônia adquiriu ao proliferar-se. Como a suspeita de que a bactéria seja um *Staphylococcus*, segundo (SIMÕES et al, 2013) o Agar Sangue quando inoculado com um *Staphylococcus*, sua colônia pode ficar branco pálida ou amarela. Em contrapartida a cultura Macconkey, quando possivelmente uma bactéria positiva que é a bactéria *Staphylococcus Aureus*, a colônia não deve se proliferar.

Com a colônia de bactérias bem formadas no meio de cultura ágar sangue, devem ser feitos dois testes para refinar ainda mais o resultado, o teste de catalase e o de coagulase. O teste de catalase tem por objetivo diferenciar, uma bactéria, que sob suspeita de ser gram negativa, diferenciá-la entre os gêneros *Staphylococcus* ou *Streptococcus*. Este é feito com uma gota de peróxido de hidrogênio sobre uma lâmina, assim com uma alça de sementeira estéril retira-se uma amostra da colônia a ser estudada e aplicada em na solução de peróxido. Se houver a fermentação da solução o resultado indica que as bactérias estudadas são do gênero *Staphylococcus*, caso nada ocorra, então há a indicação de bactérias do gênero *Streptococcus* (SOHAIL; LATIF, 2017).

A prova da coagulase consiste em colocar no tubo de ensaio o Coagu-Plasma e aplicar a colônia a ser estudada. A formação de coágulos até é interpretada como uma prova positiva. Bactérias que apresentam este teste positivo, entre elas está a *Staphylococcus Aureus* (PAIVA, 1991).

Um terceiro teste deve ser feito com o resultado das culturas, que é o antibiograma, ou seja, o objetivo final desta análise, que irá determinar qual é o antibiótico mais sensível para ser aplicado ao caso hipotético. Para realizar este teste foi coletada amostras da colônia do ágar sangue e diluídas em meio líquido até que atinja turva e 0,5 na escala de Mac Farland (NCCLS, 2003). Depois disso em um meio de cultura em uma placa de Petri, distribuir o material bacteriano utilizando a técnica de estria simples. Em seguida é aplicado uma gama de discos preparados com antibióticos. Neste artigo foram utilizados os antibióticos Cefoxitina, Ciprofloxacina, Clindamicina, Eritromicina, Gentamicina, Oxacilina, Sulfazotrim e Vancomicina (CIM).

Este meio de cultura é armazenado em e estufa à 37°C por 24 horas e é esperado que os antibióticos sensíveis possuam halos de proliferação de bactérias mínimos, conforme indicado pelos fabricantes, seguindo os diâmetros apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de referência para o teste antibiograma utilizando os antibióticos abaixo.

Antibiótico utilizado	Diâmetro mínimo do Halo (mm)
Cefoxitina	25
Ciprofloxacina	50
Clindamicina	22
Eritromicina	21
Gentamicina	22
Oxacilina	20

Sulfazotrim	17
Vancomicina (CIM)	2µg/mL

A partir destas considerações e informações baseadas em artigos científicos é possível iniciar a discussão de como tratar hipoteticamente um paciente com as amostras fabricadas em laboratório que simulam um caso de osteomielite real.

3 DISCUSSÃO

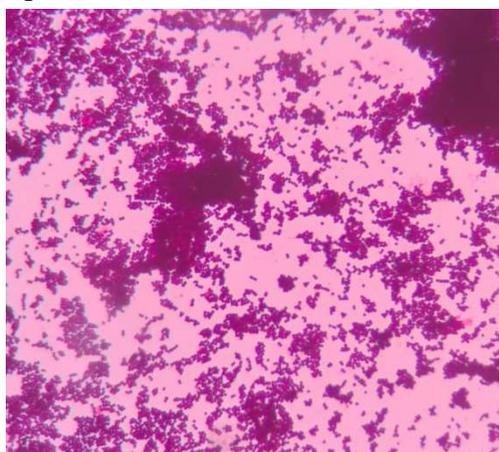
Nesta análise do caso hipotético de osteomielite, é crucial considerar as implicações éticas inerentes à pesquisa clínica, mesmo em um contexto acadêmico simulado. Embora os procedimentos laboratoriais descritos não tenham envolvido a coleta de dados de pacientes reais, deve-se destacar a importância dos procedimentos éticos em estudos clínicos genuínos. A obtenção da aprovação do comitê de ética e o consentimento informado dos participantes são etapas fundamentais da pesquisa médica.

A partir das amostras fabricadas em laboratório, que simulavam uma coleta de uma ferida supurativa, onde encontravam-se uma colônia de bactérias a ser investigada, os primeiros resultados seriam adquiridos da coloração de Gram. A Figura 1 apresenta as bactérias organizadas em pequenos grupos, como os cachos de uva. Seu formato é esférico, o que confirma o fato de serem cocos. A coloração violeta nos mostra que são bactérias gram-positivas. Não apresentam mobilidade ou modificações estruturais que permitam se mover.

Estes indícios levaram a primeira medida para conter a infecção focada para atingir bactérias gram positivas, seria recomendado aplicar um antibiótico de amplo espectro, o qual atinge grande parte das bactérias gram positivas. Seria recomendado aplicar Oxacilina 2g a cada 6 horas via endovenosa até o recebimento dos próximos resultados. Além disso deveria ser prescrito um analgésico como a codeína 30mg, dose única via oral e um anti-inflamatório o aceclofenaco 100mg, também dose única via oral, estes dois últimos visando o bem estar do paciente diante de um quadro que provavelmente seja doloroso. Até que o resultado das culturas de ágar não fosse emitido, o paciente deveria ser monitorado de perto.

Passados 24 horas, os resultados de ágar sangue e Macconkey estavam disponíveis. Observando a olho nu é possível ver claramente que somente a colônia se desenvolveu no meio de ágar sangue, como pode se ver na Figura 2. Veja que a colônia de ágar sangue é bem delimitada e branco pálido, isto mostra que possivelmente seja uma bactéria beta hemolítica, o que confirma ser uma bactéria do gênero *Staphylococcus*.

Figura 1: Bactérias gram positivas



Já no Macconkey não é possível observar nenhuma mudança de coloração. Este último

fato comprova que as bactérias estudadas são de gram positivas, já que apenas bactérias gram negativas crescem em Macconkey.

Com a colônia de bactérias do ágar sangue seria possível realizar os testes de catalase e coagulase. O teste de catalase foi executado e houve a fermentação da solução, ou seja, é mesmo um Staphylococcus. Para o teste de coagulase o resultado obtido foi que houve coagulação da solução de plasma, tornando-a positiva para Staphylococcus Aureus.

Figura 2: À esquerda, cultura de ágar sangue, à direita cultura de Macconkey, ambas após 24 horas na estufa à 37°C.



Estas informações não fazem com que o tratamento aplicado seja alterado, por isso seria aguardado o resultado dos testes do antibiograma.

Tabela 2: Resultados obtidos do teste antibiograma, em vermelho os valores que não atingiram o valor esperado, em verde os resultados que foram satisfatórios.

Antibiótico utilizado	Diâmetro mínimo do Halo (mm)	Diâmetro Obtido do Halo (mm)
Cefoxitina	25	21
Ciprofloxacina	50	0
Clindamicina	22	0
Eritromicina	21	0
Gentamicina	22	11
Oxacilina	20	0
Sulfazotrim	17	0
Vancomicina (CIM)	2µg/mL	Sensível

Então 48 horas após o início do estudo, em um quadro que o paciente também estaria internado pelo mesmo tempo, foi recebido o resultado do teste de antibiograma. Observando a placa de Petri foi possível notar que havia diversos halos no entorno de alguns discos, bastava medir os diâmetros dos halos e comprar com os valores de referência para sensibilidade (Tabela

2).

Observa-se que o único antibiótico sensível a este patógeno é a Vancomicina. Ou seja, além de já termos a confirmação de ser um *Staphylococcus Aureus*, trata-se de bactérias resistentes à Meticilina, a MRSA. Por isso a Oxacilina deveria ser suspensa e é recomendado a prescrição de Vancomicina de 15 a 20 mg/kg a cada 12 horas, não podendo exceder 2g por dia. O tratamento deve ser mantido por 4 a 6 semanas. Quanto à ferida deve-se aplicar curativo durante todo o tratamento, hidratando a lesão com Soro Fisiológico 0,9% a cada troca, que deve ser feita a cada 12 horas, secando somente a região perilesional.

4 CONCLUSÃO

O estudo foi muito importante para o entendimento da importância dos aspectos éticos na condução de pesquisas clínicas, mesmo em contextos acadêmicos simulados. Fica de sugestão aplicar os procedimentos e tratamento em pacientes reais e casos de osteomielite verdadeiros em trabalhos futuros, desde que respeite os procedimentos impostos pelo comitê de ética. Essas medidas são fundamentais para garantir a integridade e a ética da pesquisa médica, protegendo a privacidade dos pacientes e minimizando os riscos envolvidos na investigação.

A procura de cuidados de forma rápida e a busca do diagnóstico são importantes para que o quadro não se agrave. Foi possível perceber o quanto a agilidade neste processo é fundamental para que o medicamento adequado para o caso fosse aplicado, além de entender que o tempo de espera é necessário para que os testes ocorram de maneira assertiva. Foi fundamental também para entender a complexidade dos testes e o quanto importante são para a comunidade o seu uso.

Além disso, o entendimento do mecanismo de proliferação de uma bactéria resistente e nociva quanto é o *Staphylococcus Aureus* Resistente à Meticilina, é fundamental para que o cuidado seja feito da melhor maneira. Este processo depende por exemplo em entender como a Osteomielite se apresenta em paciente e como pode ser tratada. Estudo de outras formas de contaminação por *Staphylococcus Aureus* podem ser úteis para a formação acadêmica.

REFERÊNCIAS

BURY, D. C.; ROGERS, T. S; DICKMAN, M. M. Osteomyelitis: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician*. 2021; 104(4):395-402. PMID: 34652112.

CÂMARA, B. Técnicas de sementeira; **Biomedicina Padrão**, 2023. Artigo disponível em <https://www.biomedicinapadrao.com.br/2012/09/tecnicas-de-semeadura.html>. Artigo acessado em fev. 2024.

KIM, H.J.; NA, S.W.; ALODAINI, H.A.; AL-DOSARY, M.A.; NANDHAKUMARI, P.; DYONA, L. Prevalence of multidrug-resistant bacteria associated with polymicrobial infections. *J Infect Public Health*. 2021; 14(12):1864-1869. doi: 10.1016/j.jiph.2021.11.005. Epub 2021 Nov 11. PMID: 34801434.

NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - Eighth Edition. NCCLS. Pennsylvania, USA, 2003.

PAIVA, R. G.. Aprova da Coagulase Relacionada ao Meio de Cultivo de *Staphylococcus Aureus* Contendo Diferentes Concentrações de Cloreto de Sódio; **Rev. Pat. Trop**. 1991. 20(1): 21-33.

SIMÕES, T. V. M. D; OLIVEIRA, A. A.; TEIXEIRA, K. M.; JÚNIOR, A. S. R.; FREITAS, I. M; Identificação Laboratorial de Staphylococcus aureus em Leite Bovino; **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, Aracaju, 2013.

SOHAIL, M.; LATIF, Z. Prevalence and antibiogram of methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from medical device-related infections; a retrospective study in Lahore, Pakistan. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, 2017, 50(5), 680–684. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0352-2016>

TEGEGNE, H.A.; KOLÁČKOVÁ, I.; KARPÍŠKOVÁ, R. Diversity of livestock associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Asian Pac J Trop Med**. 2017, 10(9):929-931. DOI: 10.1016/j.apjtm.2017.08.013. Epub 2017 Sep 13. PMID: 29080625.

TRIPATHI, N.; SAPRA, A. Gram Staining. **StatPearls**. 2024 Jan. PMID: 32965827.

URISH, K. L.; CASSAT JE. Staphylococcus aureus Osteomyelitis: Bone, Bugs, and Surgery. **Infect Immun**. 2020 Jun 22;88(7):e00932-19. doi: 10.1128/IAI.00932-19. PMID: 32094258; PMCID: PMC7309607.