

PREVALÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS* SPP COAGULASE POSITIVO RESISTENTES Á OXACILINA EM CÃES HÍGIDOS NO MUNICÍPIO DE PELOTAS, RS

BOHM, Bianca C.¹; CHAFFE, Anna Beatriz P.²; SCHUCH, Luiz Filipe D.³; LADEIRA, Silvia ⁴; PEDRA, Marcela M.⁵.

1. Graduanda Faculdade de Veterinária-Universidade Federal de Pelotas, RS
2. Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Veterinária- Universidade Federal de Pelotas, RS
3. Prof. Dr. - Faculdade de Veterinária e Programa de Pós-Graduação- Universidade Federal de Pelotas ,RS
4. Médica Veterinária – Laboratório de Bacteriologia – Universidade Federal de Pelotas, RS
5. Graduanda Faculdade de Biologia- Universidade Federal de Pelotas, RS

1. INTRODUÇÃO

Staphylococcus spp é uma bactéria Gram positiva ubíquo na natureza, frequentemente presente na pele e mucosas de animais, inclusive nos seres humanos. Muitas outras características do microrganismo lhe conferem maior ou menor patogenicidade, entre elas, fatores estruturais, produção de enzimas e toxinas, e mecanismos de resistência a antimicrobianos. O *Staphylococcus aureus* se destaca pelas seguintes características: são cocos Gram positivos, coagulase positivos, β - hemolíticos, maltose e manitol positivos e formadores de colônias pigmentadas (QUINN et. al., 1998).

A produção de coagulase e β -hemólise são duas características que associam os estafilococos à virulência (MUNDIM et. al., 2003). Esses fatores conferem alta resistência aos antimicrobianos (ZECCONI, et. al. (2000) citado por NADER et. al., 2010).

Staphylococcus aureus resistente a metilina (SARM) caracteriza-se pela resistência aos antibióticos β -lactâmicos em geral (MENEGOTTO & PICOLI, 2007). Um estudo feito por Cuevas et. al. (2004), na Espanha, demonstrou que esta resistência vem aumentando progressivamente, passando de 1,5% em 1986 para 31,2% em 2002 devido à presença do gene *mec A*. (MANFREDINI et. al., 2011; FARIAS et. al., 1997).

As taxas de resistência aos antibióticos em animais de companhia se elevaram ao longo dos anos (WITTE, 1999; WERCKETHIN et. al., 2001), e esse aumento acompanhou a utilização mais frequente de antimicrobianos no tratamento de infecções nesses animais, pois cada vez mais os pacientes são tratados com antibióticos de amplo espectro sem a certeza da sua real necessidade, já que exames para a identificação bacteriana e a sua susceptibilidade antimicrobiana muitas vezes não são realizados (GUARDABASSI et. al. (2004); GUARDABASSI et. al., (2008) citado por ISHII et. al., 2010). Cepas de *Staphylococcus* spp. resistente à oxacilina indicam a necessidade de monitorar os perfis de isolamento e suscetibilidade aos antimicrobianos na prática veterinária (SOARES et. al., 2008).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a sensibilidade e a prevalência de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados da mucosa anal e nasal de cães hígidos não domiciliados e domiciliados avaliando os possíveis fatores de risco.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

2.1. Local de realização de amostragem e de execução do trabalho: Foram utilizados para a amostragem cães hígidos com proprietário e cães de rua recolhidos ao módulo Canil do Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura Municipal de

Pelotas (MC-CCZ-PMP). Os procedimentos laboratoriais foram executados no Laboratório de Doenças Infecciosas da Faculdade de Veterinária da UFPel.

2.2. Coleta de material: Foram coletados com auxílio de swab úmido, amostras da mucosa nasal e anal de cães hígidos com proprietário e cães de rua, segundo descrito por Coughlan et. al. (2010). Foram realizadas 50 coletas anais e nasais de cães hígidos oriundos do MC-CCZ-PMP e 24 amostras anais e nasais de cães hígidos domiciliados. As amostras foram acondicionadas e transportadas ao Laboratório de Doenças Infecciosas, sendo a semeadura do material realizada no mesmo dia da coleta.

2.3. Investigação Epidemiológica: As coletas foram realizadas mediante fichas de investigação e questionários contendo informações detalhadas das características como comportamento, idade, sexo, pelagem, histórico prévio de tratamento e profilaxia dos cães em que foram realizadas as coletas.

2.4. Isolamento e identificação de SARM resistente: Todos os materiais foram semeados em Agar manitol salgado e incubados à 45°C por 24 ou 48 horas conforme necessidade. Após a incubação, uma colônia de coco gram positivo e catalase positiva foi caracterizada utilizando o teste bioquímico, como: coagulase, MRVP, fermentação da trealose e da maltose (SCHISLER et. al. 2009).

2.5. Realização do antibiograma: A resistência a oxacilina foi aferida para todas as amostras isoladas através de antibiograma utilizando o teste de difusão com discos de oxacilina à 1µg conforme recomendado por Schissler et. al. (2009), realizado em Àgar Mueller-Hinton, utilizando discos de oxacilina comerciais. Após 24h em estufa a 35°C, as leituras foram realizadas com a mensuração do halo de inibição, sendo que isolados que apresentaram halo inferiores a 14 mm foram classificadas como Resistentes, maiores que 14 mm Sensíveis e aqueles entre estas medidas, Intermediárias. Somente as cepas coagulase-positivas foram submetidas a esta análise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados 50 animais do MC-CCZ-PMP (100 amostras). Obteve-se 63 amostras positivas para *Staphylococcus* spp. Destas, 21(42%) foram coagulase positivas e 42 (84%) coagulase negativas. Das 21 amostras coagulase positivas 15 (71,5%) foram amostras nasais e 6 (28,5%) foram amostras anais. Das 42 (84%) amostras coagulase negativas, 18 (42,8%) são amostras nasais e 24 (57%) são amostras anais, nas amostras restantes não houve crescimento bacteriano.

Foram avaliadas as amostras que apresentavam coagulase positivas e resistentes a oxacilina através do antibiograma.

A partir dos 21 isolados coagulase positivo, 7 (33,3%) foram resistentes, onde 2 coletas foram anais (2/6=33,3%) e 5 nasais (5/15=33,3%).

Também foram realizadas coletas em cães domiciliados de pontos aleatórios da zona urbana do município de Pelotas, das quais 24 são anais e 24 nasais, num total de 48 amostras, destas 08 (16,6%) foram coagulase positivas e 40 (83,3%) coagulase negativas. Das 08 amostras coagulase positivas 06 (75%) são amostras nasais e 02 (25%) são amostras anais. Das 40 amostras coagulase negativas 07(17,5%) são amostras nasais e 33 (82,5%) são amostras anais, nas amostras restantes não houve crescimento bacteriano. Das amostras coagulase positivas 2 amostras nasais apresentaram resistência a oxacilina.

O percentual de isolamento foi maior na coleta nasal. Porém, o percentual de cepas resistente foi idêntico entre as duas regiões amostradas. É relevante destacar a importância da via de transmissão e eliminação através da mucosa nasal, o que

provavelmente favoreça a manutenção e resistência desses patógenos nas vias respiratórias além do microclima do focinho e alta competitividade com outros microrganismos nas fezes (SCHISLER et. al. 2009).

Comparando os resultados das amostras dos cães não domiciliados com os cães domiciliados ambos apresentaram bactérias resistentes nas amostras nasais. Provavelmente as bactérias nasais dos cães domiciliados tenham apresentado resistência pela pressão exercida ao uso indiscriminado de antibióticos de mesmo grupo (penicilinas) ou o contato mais próximo com o ser humano. Nos cães não domiciliados o fato talvez esteja relacionado à grande plasticidade das bactérias em diversos ambientes relacionados ao fatores ambientais e climáticos associados ao comportamento gregário das matilha. Em ambos os grupos de cães pode haver relação ao possível contato com resíduos humanos, alimentos que podem conter tanto antibióticos quanto bactérias resistentes. Também, ressalta-se que as amostras de cães de rua são os recolhidos pelo CCZ e manipulados por veterinários, muitos tratados com antibiótico por serem recolhidos enfermos. Das 148 amostras anais e nasais coletadas dos dois grupos de cães 10 apresentaram *Staphylococcus* spp resistentes a oxacilina independente do local da coleta.

A frequência dessa transmissão ainda não é conhecida. Mas ela existe, significando um problema de saúde pública. Os cães são reservatórios dessas bactérias multidrogas resistentes e podem transmitir através de plasmídios os genes de resistência. É provável que o aumento da proximidade com esses animais facilite a transmissão, causando um grave problema de saúde pública (CRUZ, 2009).

Staphylococcus metilina resistente (MRSA), se torna uma causa importante na comunidade hospitalar e infecções associadas em humanos, tornando-se cada vez mais reconhecido como um patógeno em animais de companhia.

4. CONCLUSÃO

Foram isolados a partir de swabs anal e nasal de cães hígidos 71 amostras coagulase positivas de cães domiciliados e não domiciliados onde 10 amostras foram *Staphylococcus* coagulase positiva resistentes a metilina indicando uma prevalência de 14% de cães portadores desses cepas. A prevalência em cães domiciliados e não domiciliados foi semelhante a 25% e 33% respectivamente. A resistência está cada vez mais presente em microrganismos indicando a grande facilidade dos mesmos em se adaptarem a pressão de seleção do meio em que habitam tanto em animais com em seres humanos. A caracterização genética das cepas e a análise mais detalhada da epidemiologia destes isolados pode auxiliar na compreensão da epidemiologia no Município de Pelotas deste importante problema de saúde pública (HANSELMAN, B.A. et.al., 2009).

5. REFERÊNCIAS

CRUZ, A.R.; **Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas isoladas de cães frente a antimicrobianos**. 2009. Dissertação de Mestre em Medicina Veterinária. Universidade Estadual Paulista "Julio Mesquita Filho"-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, 2009.

COUGHLAN, K; OLSEN, K.E; BOXRUD, D; BENDER, J.B. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in resident animals of a long-term care facility. **Zoon. and Public Health**, no prelo. 2010.

HANSELMAN, B.A.; KRUTH, S.A.; ROUSSEAU, J.; WEESE, J.S.; Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. **Can Vet J**, Canadá, v.50, n.9, p.954–958, 2009;

FARIAS, W.V.L.; SADER, H.S.; LEME, I.L.; PIGNATARI, A.C. Padrão de sensibilidade de 117 amostras clínicas de *Staphylococcus aureus* isoladas em 12 hospitais. **Rev Ass Med Brasil**, São Paulo, v.43, v.3, p.199-204, 1997.

ISHII, J.B; FREITAS, J. C; ARIAS, M.V.B; Resistência de bactérias isoladas de cães e gatos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (2008-2009) **Pesq. Vet. Bras**. Seropédica, v.31, n.6 p.533-537, 2011

MANFREDINI, C.; PICOLI, S.U.; BECKER, A.P. Comparação de métodos na determinação de sensibilidade à vancomicina em *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina. **J Bras Patol Med Lab**. Rio de Janeiro, v.47, n. 2, p.141-145, 2011.

MENEGOTTO, F.R.; PICOLI, S.U. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. **RBAC**, Rio de Janeiro, v.39, n.2, p.147-150, 2007.

MUNDIM, G. J.; DEZENA, R.A.; OLIVEIRA, A.C.S.; SILVA, P.R.; CARDOSO, M.; PERREIRA, G.A.; MORAIS, C.A.; TERRA, A.P.S. Avaliação da presença de *Staphylococcus aureus* nos leitos do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Escola da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, em relação à posição no colchão antes e após a limpeza. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba, v.36, n.6, p.685-688, 2003.

NADER, T.T.; COPPEDE, J.S.; AMARAL, L.A.; FACHIN, A.L.; PEREIRA, A.M.S.; FERREIRA, L.M.; **Avaliação in vitro da eficácia de extratos de plantas medicinais do cerrado frente *Staphylococcus aureus* isolado de diferentes fontes de propriedades leiteiras**. 2010. Dissertação de Mestre em Medicina Veterinária Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, fev. 2010.

QUINN, P.J.; CARTES, M.E.; MARKEY, B.; CARTER, G.R. **Clinical Veterinary Microbiology**. Ed. Wolfe, Londres, 1998. 648p.

SOARES, L.; PEREIRA, I.A.; COELHO, S.M.O.; CUNHA, C.M.M.; OLIVEIRA, D.F.B.; MIRANDA, A.N.; SOUZA, M.M.S. Caracterização fenotípica da resistência a antimicrobianos e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp. coagulase-negativos isolados de amostras animais e humanas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.5, p. 1346-1350, 2008.

SCHISLER, J.R; HILLIER, A; DANIELS, I.B; COLE, L.K; GEBREYES, W.A. Evaluation of clinical standards Institute interpretative criteria for methicillin-resistant *Staphylococcus pseudointermedius* isolated from dogs. **J. Vet. Diagn. Invest**, Estados Unidos da América, v. 21, n.5, p. 684-688, 2009.