

Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública

Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v. 3, n. 1, p. 008-013, 2016

Deteção de *Staphylococcus* spp. Meticilina Resistente em Centro Cirúrgico de Grandes

Animais

(*Methicillin-Resistant Staphylococcus spp. in Surgical Center of Large Animals*)

BAZÍLIO, Lucas Emanuel Pereira¹; BORDIN, Jéssica Tainá²; GRANEMANN, Myrian Carla³; SFACIOTTE, Ricardo Antonio Pilegi⁴; VIGNOTO, Vanessa Kelly Capoa^{3,5}; OSAKI, Sílvia Cristina⁶; MUNHOZ, Patrícia Marques⁷; WOSIACKI, Sheila Rezler^{8*}

¹ Discente de Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Maringá (UEM);

² Discente do Programa de Residência em Doenças Infeciosas e Parasitárias da Universidade Estadual de Maringá (UEM);

³ Discente nível Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, Universidade Estadual de Maringá (UEM);

⁴ Discente nível Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC);

⁵ Técnica do Laboratório de Microbiologia Animal, Campus Regional de Umuarama, Universidade Estadual de Maringá (UEM);

⁶ Docente do Departamento de Ciências Veterinárias e do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Paraná (UFPR), setor Palotina – Palotina, PR;

⁷ Docente do Departamento de Medicina Veterinária, Campus Regional de Umuarama, Universidade Estadual de Maringá (UEM);

⁸ Docente do Departamento de Medicina Veterinária e do Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, Campus Regional de Umuarama, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Umuarama, PR Cx. Postal: 65, CEP: 87501-970, Brasil. * Autor para correspondência: swosiacki@uem.br

Artigo enviado em 21/07/2016, aceito para publicação em 29/08/2016

DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/revcivet.v3i1.32825>

RESUMO

O objetivo deste estudo foi identificar *Staphylococcus* spp. Resistente à Meticilina (MRS) em um Centro Cirúrgico de Grandes Animais. Foram coletadas 24 amostras deste local, em pontos estratégicos, antes e após limpeza e desinfecção. A detecção de MRS foi realizada pela técnica de disco-difusão com discos de penicilina, oxacilina e cefoxitina. Os resultados das coletas feitas no ambiente sem desinfecção mostram a presença de *Staphylococcus* spp. em 58,3% das amostras, sendo 85,7% destas MRS. Dentre as seis amostras oxacilina-resistentes, todas foram resistentes a penicilina e duas foram resistentes a cefoxitina. Na coleta após a desinfecção foram identificados estafilococos em 33,33% das amostras, sendo dois MRS. Com este estudo pode-se concluir que a presença de MRS é uma realidade na Medicina Veterinária Hospitalar, semelhante ao ocorrido em Hospitais Humanos. Trata-se de um patógeno de fácil transmissão, devendo-se tomar medidas profiláticas, como limpeza de mãos e utensílios médicos para evitar sua disseminação, além do uso correto da antibioticoterapia.

Palavras-chave: estafilococos, MRS, equinos, Hospital Veterinário.

ABSTRACT

The objective of this study was to identify Methicillin-Resistant *Staphylococcus* spp. (MRS) in a Surgical Center Large Animals. 24 samples were collected from this site, at strategic points, before and after cleaning and disinfection. MRS detection was performed by disk diffusion technique with penicillin, oxacillin and cefoxitin discs. The results of the collections made without disinfecting the environment show the presence of *Staphylococcus* spp. in 58.3% of samples (85.7% of MRS). Among the 6 samples oxacillin-resistant, all were resistant to penicillin and 2 were resistant to cefoxitin. In collection after disinfection staphylococci were identified in 33.33% of the samples (two MRS). With this study we can conclude that the presence of MRS is a reality in Veterinary Hospital, similar to that in human hospitals. It is a pathogen of easy transmission and should be taken preventive measures, such as cleaning hands and medical devices to prevent its spread beyond the correct use of antibiotics.

Key-words: staphylococci, MRS, horses, Veterinary Hospital.

INTRODUÇÃO

Dentre os microrganismos presentes na microbiota normal, destaca-se o gênero *Staphylococcus*, que consistem em bactérias Gram e catalase positivo, coagulase positivo (ou não), anaeróbios facultativos e que perfazem na microscopia, um arranjo semelhante a um cacho de uva (CARTER et al., 2005). Estão relacionados a comensalismo de pele e mucosas, podendo também causar infecções piogênicas, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, muito jovens ou idosos (CAVALCANTI et al., 2006).

O *Staphylococcus* spp. é um dos principais patógenos que provocam infecções hospitalares, obtendo destaque os produtores de coagulase, por ter a capacidade de aglutinar o plasma de mamíferos (inclusive humanos). Em medicina humana estão relacionados, segundo Santos et al. (2007), a infecções cutâneas como carbúnculos, furúnculos, foliculites simples e feridas cirúrgicas, bem como pneumonias, endocardite, osteomielite e formação de abscessos metastáticos. Já em medicina veterinária relata-se a ocorrência de infecções estafilocócicas causadoras de mastite em bovinos (FREITAS et al., 2013), otite externa, endometrite, cistite e osteomielite (CARTER et al., 2005).

As infecções hospitalares ou doenças associadas ao cuidado são comuns e problemáticas devido a sua frequência, morbidade, mortalidade (KOLLEF, 2008), além da multirresistência do patógeno (LOWY, 1998).

A partir da descoberta da penicilina, com o uso indiscriminado nos tratamentos, na década de 1960, descobriu-se microrganismos produtores de enzima capaz de romper o anel beta-lactâmico das penicilinas, fazendo com que o antibiótico perdesse sua atividade antimicrobiana, essa enzima foi denominada de beta-lactamase (LOWY, 2003). Com o aparecimento da resistência na década de 1960, desenvolveu-se antibióticos com anel beta-lactâmico sintético, denominado de meticilina, o qual era resistente à ação das beta-lactamases, produzidas pelas

cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*. Entretanto, após o uso da meticilina, surgiram cepas resistentes à esse antimicrobiano, possuindo resistência à todos os antimicrobianos beta-lactâmicos, as quais foram denominadas de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (LOWY, 1998). Os primeiros antimicrobianos disponíveis foram a meticilina e a oxacilina.

Tanto na medicina humana, quanto na medicina veterinária, as infecções causadas pelo MRSA estavam limitadas aos hospitais (HA-MRSA), nos últimos anos, as infecções adquiridas ou associadas à comunidade (CA-MRSA), vem sendo descritas de forma crescente, em todo o mundo. As cepas CA-MRSA apresentam características fenotípicas e genéticas diferentes das cepas hospitalares, com potencial de causar infecções em indivíduos saudáveis, não expostos à fatores de risco (BASSETI et al., 2009).

Infecções por MRS se tornaram um problema cosmopolita, podendo afetar tanto o homem quanto animais, sendo provável a existência de transmissão entre ambos (LOEFFLER et al., 2005; COELHO et al., 2007).

A frequência de infecções relacionadas ao MRSA tem apresentado crescimento contínuo em instituições hospitalares a nível mundial (BURKE, 2003; ALMEIDA et al., 2007). A presença de MRSA no ambiente se torna preocupante, ao se levar em conta que estudos mostraram que o mesmo pode permanecer em superfícies secas por períodos variados de tempo, persistindo por meses, mesmo após utilização de métodos de desinfecção (FERREIRA et al., 2015). A fácil contaminação e transporte são outros fatores que corroboram para a disseminação de MRS, podendo ser carregados por profissionais da saúde principalmente pelas mãos, mas também por luvas e vestimentas, além de objetos como termômetro e estetoscópio. A questão se agrava quando se leva em conta a utilização de forma errônea de antimicrobianos, proporcionando o aumento de cepas multirresistentes (ALVAREZ et al., 2010).

Quanto a identificação de MRS vários métodos são utilizados, como incubação em temperatura entre 33-35°C por 24 horas em meio contendo cloreto de sódio, detecção do gene *mecA* pelo método de PCR, e o mais utilizado, teste de disco de difusão, sendo o de oxacilina o mais empregado (MIMICA e MENDES, 2007), podendo utilizar também a cefoxitina para uma maior acuidade dos resultados (ZURITA et al., 2010).

O objetivo deste estudo foi verificar a presença de MRS no centro cirúrgico de grandes animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram feitas 2 coletas no Centro Cirúrgico de Grandes Animais do Hospital Veterinário (HVU) do Campus Regional de Umuarama (CAU) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) em 12 pontos estratégicos, uma coleta com o ambiente sem desinfecção e outra após a limpeza, totalizando 24 amostras.

Os swabs estéreis dos pontos de coleta foram imersos em tubos contendo BHI (Brain Heart Infusion) e incubados a 36°C por 24 horas. As amostras foram semeadas em placas de Petri contendo Ágar Nutriente (OXOID) com cloreto de sódio 4,5% (seletivo para *Staphylococcus* spp.) e incubados por 24 horas a 36°C.

As colônias foram submetidas à testes morfológicos e bioquímicos (gram, catalase e coagulase com plasma de equino), posteriormente foi realizado antibiograma, pela técnica de disco de difusão, segundo Bauer et al. (1996), com os

antibióticos amicacina, cefoxitina, gentamicina, penicilina e oxacilina, avaliando-se os resultados segundo CLSI (2014).

Os resultados foram submetidos à análise descritiva para a comparação das frequências absoluta e relativa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das coletas (tabela 1) feitas no ambiente sem desinfecção mostram *Staphylococcus* spp. em 58,3% das amostras, sendo 85,7% coagulase positivas (CoPS). MRS foi identificado em 85,7% das amostras de *Staphylococcus* spp., sendo 83,33% de CoPS. Dentre as 6 amostras oxacilina-resistentes, todas foram resistentes a penicilina; 2 (33,3%) foram resistentes a cefoxitina, 2 intermediárias e 2 sensíveis; 2 apresentavam resistência a gentamicina, sendo uma sensível a amicacina e outra com resistência intermediária. A cepa oxacilina-sensível foi sensível também aos demais antibióticos testados.

Com relação às 12 amostras do ambiente após desinfecção, houve crescimento de *Staphylococcus* spp. em 4 amostras, sendo uma cepa sensível a todos os antibióticos testados; uma resistente a penicilina, oxacilina, cefoxitina e gentamicina; uma resistente a penicilina e oxacilina, porém sensível aos demais antibióticos testados; e uma resistente a penicilina e com resistência intermediária a cefoxitina e oxacilina.

Tabela 1. Resultados obtidos da pesquisa de *Staphylococcus* spp. e perfil de resistência fenotípica, em pontos estratégicos do Centro Cirúrgico de Grandes Animais do Hospital Veterinária da UEM

Locais de coleta	Tempo de coleta	Microrganismo	PEN	OXA	CFO	GEN	AMI
Mesa Cirúrgica (cabeça)	Pré desinfecção	CoPS	R	R	R	R	R
	Pós desinfecção	CoPS	R	I	R	S	S
Mesa de instrumentos	Pré desinfecção	CoPS	R	R	R	S	S
	Pós desinfecção	CoPS	R	R	S	S	S
Chão	Pré desinfecção	CoNS	R	R	R	R	I
	Pós desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
Mesa cirúrgica (tira)	Pré desinfecção	CoPS	S	S	S	S	S
	Pós desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
Respirador esquerdo	Pré desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
	Pós desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
Respirador direito	Pré desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
	Pós desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
Tubo respirador entrada	Pré desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
	Pós desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
Tubo respirador saída	Pré desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
	Pós desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
Mureta	Pré desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
	Pós desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-
Roda pé	Pré desinfecção	CoPS	R	R	R	S	S
	Pós desinfecção	CoPS	S	S	S	S	S
Almofada parede	Pré desinfecção	CoPS	R	R	R	S	S
	Pós desinfecção	CoPS	R	R	R	R	S
Pré-cirúrgico	Pré desinfecção	CoPS	R	R	R	S	S
	Pós desinfecção	s/cresc.	-	-	-	-	-

PEN: penicilina; OXA: oxacilina; CFO: cefoxitina; GEN: gentamicina; AMI: amicacina; CoPS: *Staphylococcus* spp. coagulase positivo; CoNS: *Staphylococcus* spp. coagulase negativo; R: resistente; S: sensível; I: intermediário.

Os resultados mostram que 81,8% das cepas de *Staphylococcus* spp. foram resistentes a penicilina, destes 72,7% devem ser considerados MRS por terem apresentado também resistência a oxacilina/cefotina. Dentre os MRS encontrados, 37,5% foram caracterizados como multirresistentes, com resistência às penicilinas beta-lactamases resistentes, cefamicinas (cefotina) e aminoglicosídeos (gentamicina).

Na medicina veterinária, os casos de infecção por MRS mais relatados são os de mastite em bovinos, interferindo não só na qualidade de vida do animal, mas também diminuindo a produção, podendo também causar infecções em humanos através do leite e seus derivados (SANTOS, 2006; CIFTC et al., 2009).

Em cães, o fator etiológico que mais causa piodermite é o gênero *Staphylococcus* spp. (PIANTA et al., 2006), onde em estudo realizado por Almeida (2011), foi constatado que 77% dos 36 cães diagnosticados com piodermite, apresentavam

resistência a oxacilina. Em relação a otites, Freitas et al. (2013), relatam que em 70 cães e 30 gatos de sua pesquisa, 42,8% e 57,1% respectivamente, apresentaram cepas de *Staphylococcus* consideradas MRS.

Um estudo realizado com estudantes da Universidade de Fortaleza – CE, no período de agosto a dezembro de 2011, foram coletadas 204 amostras de swabs obtidos da cavidade nasal (narina direita) e das mãos (mão direita e esquerda) de 102 universitários escolhidos de forma aleatória, excluídos os estudantes que estiveram em contato com o ambiente hospitalar, relata que dois (5,1%) dos 39 estudantes colonizados por *S. aureus*, apresentaram cepas de MRSA (RIBEIRO et al., 2014).

De acordo com Nangino et al. (2012), as taxas de infecções nosocomiais em humanos no Brasil, são mais elevadas do que em outros países. Um estudo que avaliou os pacientes brasileiros incluídos no Extended

Prevalence of Infection in Intensive Care II (EPIC II), verificou que em 1235 pacientes, cerca de 62% apresentavam quadros de infecção, dados mais elevados do que quando observados pela mesma base em outros países da Europa e América do Norte.

CONCLUSÕES

Com este estudo pode-se concluir que a presença de MRS é uma realidade na Medicina Veterinária Hospitalar, semelhante ao ocorrido em Hospitais Humanos. Trata-se de um patógeno de fácil transmissão, devendo-se tomar medidas profiláticas, como limpeza de mãos e utensílios médicos para evitar sua disseminação, além do uso correto da antibioticoterapia.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. I.; BEDENDO, J.; CAVASIN, E. D.; TOGNIM, M. C. B. Prevalência e perfil de sensibilidade de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos clínicos de infecções hospitalares. **Rev. Eletr. Enf.**, v. 9, n. 2, p. 489-485, 2007.
- ALMEIDA, G.R. **Isolamento de Staphylococcus spp. multirresistentes da pele de cães saudáveis e com piodermite**. 2011. 50f. Dissertação (Mestrado em ciência animal) - Universidade Federal de Goiás Escola de veterinária e zootecnia, Goiânia, 2011.
- ALVAREZ, C.; LABARCA, J.; SALLES, M. Estratégias de prevenção de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) na América Latina. **Braz. J. Inf. Disease**, v.14, supl.2, 2010.
- BASSETTI, M.; NICCO, E.; MIKULSKA, M. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice? **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 34, n. 1, p. 15-19, 2009.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.
- BURKE, J. Infection control: a problem for patient safety. **N. Engl. J. Med.**, v. 348, n. 7, p. 651-656, 2003.
- CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.C.; LEONARD, F.C.; MAGUIRE, D.; MARKEY, B.K.; QUINN, P.J. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artimed, 2005. 512p.
- CAVALCANTI, S. M. M.; FRANÇA, E. R.; VILELA, M. A.; MONTENEGRO, F.; CABRAL, C.; MEDEIROS, A. C. R. Estudo comparativo de *Staphylococcus aureus* importado para as unidades de terapia intensiva de hospital universitário, Pernambuco, Brasil. **Rev. Bras. Epid.**, São Paulo, v. 9, p. 436-446, 2006.
- CIFTCI, A.; FINDIK, A.; ONUK, E.E.; SAVASAN, S. Detection of methicillin resistance and *slime* factor production of *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis. **Braz. J. Microbiol.**, v.40, n.2, 2009.
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; Twenty Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
- COELHO, S.M.O.; GOMES, L.P.; MORAES, R.A.M.; PEREIRA, I.A.; SOARES, L.C.; SOUZA, M.M.; S. Mapeamento do perfil de resistência e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus intermedius* oxacilina-resistentes isolados de espécies humanas e animais. **Ciência Rural**, v.37, n.1, p.195-200, 2007.
- FERREIRA, A.M.; ANDRADE, D.; RIGOTTI, M. A.; ALMEIDA, M. T. G.; GUERRA, O. G.; SANTOS JUNIOR, A. G. Avaliação da desinfecção de superfícies hospitalares por diferentes métodos de monitoramento. **Rev. Latino- Am. Enfermagem**, v. 23, n. 3, p. 466-474, 2015.
- FREITAS, A.B.; MOURA, M.A.; PEREIRA, J.Q.; TEIXEIRA, D.R. *Staphylococcus aureus* resistentes

- em animais de companhia. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 16, n. 16, p. 95 – 101, 2013.
- KOLLEF, M. Smart Approaches for Reducing Nosocomial Infections in the ICU. **Chest**, v. 134, n. 2, p. 447- 456, 2008.
- LOEFFLER, A.; BOAG, A.K.; SUNG, J.; LINDSAY, J. A.; GUARDABASSI, L.; DALSGAARD, A.; SMITH, H.; STEVENS, K. B. Prevalence of Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. **J. Antimicrob. Chemother**, v.56, p.692-687, 2005.
- LOWY, F. D. *Staphylococcus aureus* infections. **N. Engl. J. Med.**, v. 339, p. 520-532, 1998.
- LOWY, F.D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **Review. J. Clin. Invest.**, v.111, p. 1265-1273, 2003.
- MIMICA, M.J.; MENDES, C.M.F. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. **Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 43, n. 6, p. 399-406, 2007.
- NANGINO, G.O.; OLIVEIRA, C.D.; CORREIA, P.C.; MACHADO, N.M.; DIAS, A.T.B. Impacto financeiro das infecções nosocomiais em unidades de terapia intensiva em hospital filantrópico de Minas Gerais. **Rev. Bras Ter Intensiva**, v. 24, n. 4, p. 357-361, 2012.
- PIANTA, C.; OLIVEIRA, S. J.; FALLAVENA, L. C. B.; ESMERALDINO, A. T.; SILVA JUNIOR, V. B. Pioderma estafilocócico canino: identificação das espécies e sensibilidade aos antimicrobianos. **Rev. Ciênc. Agrovet.**, v.5, p.60-63, 2006.
- RIBEIRO, I. F.; SILVA, S. F. R.; SILVA, S. L.; RIBEIRO, T. R.; ROCHA, M. M. N. P.; STOLP, A. M. V. Identificação de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em estudantes universitários. **Ver. Ciênc. Farm. Básica. Apl.**, v. 35, n. 2, p. 301- 304, 2014.
- SANTOS, C.D.M. *Staphylococcus* sp e enterobactérias isoladas de mastite recorrente em oito rebanhos da região de Uberlândia: Perfil de suscetibilidade ao antimicrobianos. 2006. 53f. Dissertação (Mestrado em ciências veterinárias de produção animal). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 43, n. 6, p. 413-423, dezembro 2007.
- ZURITA, J.; MEJIA, C.; GUZMÁN- BLANCO, M. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à metilina na América Latina. **Braz. J. Infect. Dis.**, vol.14, n. 2, 2010.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ. 1998. 185p.
- SANTOS, L. R.; SCALCO NETO, J. F.; RIZZO, N. N.; BASTIANI, P. V.; OLIVEIRA, V. M.; BOSCARDIN, G.; RODRIGUES, L. B.; BARCELLOS, H. H. A.; BRUM, M. V. EFICÁCIA DE DESINFETANTES E ANTI-SÉPTICOS EMPREGADOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UPF (HV-UPF) BRASIL. **Revista da FZVA**, v.14, n.2, p. 156-164, 2007.
- SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3ª Ed. Editora Manole , Barueri, 2007.