

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ISOLAMENTO E PERFIL DE SUSCETIBILIDADE A  
ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE ESTAFILOCOCOS  
RESISTENTES A METICILINA EM UM HOSPITAL  
VETERINÁRIO DE ENSINO NO BRASIL**

**Renato Pariz Maluta**

**Orientador: Prof. Dr. Fernando Antonio de Ávila**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

JABOTICABAL – SP  
Fevereiro de 2008

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Maluta, Renato Pariz  
M954i Isolamento e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de cepas de estafilococos resistentes a meticilina em um hospital veterinário de ensino no Brasil / Renato Pariz Maluta. -- Jaboticabal, 2008  
ix, 34 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008  
Orientador: Fernando Antonio de Ávila  
Banca examinadora: José Moacir Marin, Luiz Florêncio Franco Margatho  
Bibliografia

1. Nosocomial. 2. Cães. 3. *Staphylococcus* spp. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:614.4:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CÂMPUS DE JABOTICABAL  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS



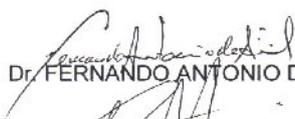
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

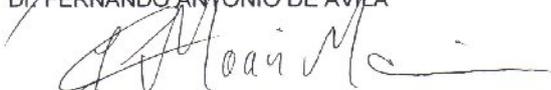
**TÍTULO:** ISOLAMENTO E PERFIL DE SUSCETIBILIDADE A ANTIMICROBIA-  
NOS DE CEPAS DE ESTAFILOCOCOS RESISTENTES A METICILI-  
NA EM UM HOSPITAL VETERINÁRIO DE ENSINO NO BRASIL

**AUTOR:** RENATO PARIZ MALUTA

**ORIENTADOR:** Dr. FERNANDO ANTONIO DE ÁVILA

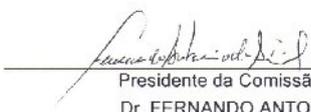
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em MICROBIOLOGIA  
AGROPECUÁRIA pela Comissão Examinadora:

  
Dr. FERNANDO ANTONIO DE ÁVILA

  
Dr. JOSÉ MOACIR MARIN

  
Dr. LUIZ FLORÊNCIO FRANCO MARGATHO

Data da realização: 26 de fevereiro de 2008.

  
Presidente da Comissão Examinadora  
Dr. FERNANDO ANTONIO DE ÁVILA

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**RENATO PARIZ MALUTA** – nascido a 27 de junho de 1981 em São Caetano do Sul – SP. Iniciou o curso de Medicina Veterinária em março de 2001 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista (FCAV-UNESP), concluindo em janeiro de 2006. Em março de 2006 iniciou o curso de mestrado em Microbiologia Agropecuária.

*“Dura Lex Sed Lex”*

“A lei é dura, mas é a lei”

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a meus familiares, amigos, professores e todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho.

Agradeço a CAPES pela bolsa de estudos concedida e ao CNPq pelo suporte financeiro.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
RESUMO.....	viii
SUMMARY.....	ix
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
III. OBJETIVOS.....	10
IV. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
V. RESULTADOS.....	19
VI. DISCUSSÃO.....	21
VII. CONCLUSÕES.....	24
VIII. IMPLICAÇÕES.....	25
IX. REFERÊNCIAS.....	27

## LISTA DE ABREVIATURAS

- CIM → Concentração inibitória mínima
- CoNS → Estafilococos coagulase-negativos
- CoPS → Estafilococos coagulase-positivos
- EMRSA-15 → Clone de MRSA de origem hospitalar encontrado no Reino Unido
- MecA* → Gene que codifica a PBP2
- MRCoNS → Estafilococos coagulase-negativos resistente a meticilina
- MRS → Estafilococos resistentes a meticilina
- MRSA → *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina
- MRSI → *Staphylococcus intermedius* resistente à meticilina
- PBP2 → Proteína que se liga à penicilina
- PCR → Reação em cadeia de polimerase

**ISOLAMENTO E PERFIL DE SUSCETIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE  
CEPAS DE ESTAFILOCOCOS RESISTENTES A METICILINA EM UM  
HOSPITAL VETERINÁRIO DE ENSINO NO BRASIL.**

**RESUMO** – O objetivo desse estudo foi isolar cepas de estafilococos resistentes a meticilina (MRS) de humanos e cães e verificar os seus respectivos perfis de suscetibilidade a diversos antimicrobianos em um hospital veterinário de ensino no Brasil. Foram analisados espécimes de 50 pessoas e de 50 cães para isolamento de estafilococos que foram identificados através de características morfotintoral, reações bioquímicas e resistência a antimicrobianos. Foi verificado o perfil de suscetibilidade a oxacilina, penicilina, ciprofloxacina, gentamicina, clindamicina, eritromicina, sulfametoxazol+trimetoprim e vancomicina. Não foram isolados *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) e *Staphylococcus intermedius* resistentes a meticilina (MRSI). Foram isoladas duas cepas de estafilococos coagulase-negativas resistentes a meticilina (MRCoNS) de cães (4%) e 18 cepas de MRCoNS de seres humanos (36%). Todas as cepas de estafilococos isoladas foram sensíveis a vancomicina. O isolamento de MRCoNS merece atenção devido à hipótese que estes podem transferir o gene *mecA* para estafilococos coagulase-positivos. A ausência de cepas de MRSA resistentes a vancomicina é importante por ser este um antibiótico que pode ser usado como alternativa extrema. Programas de vigilância de MRS devem ser estimulados em unidades de saúde veterinárias.

**Palavras-Chave:** cães, MRSA, nosocomial, pessoal veterinário, resistência a meticilina, *Staphylococcus* spp.

**ISOLATION AND SUSCEPTIBILITY PROFILE TO ANTIMICROBIALS FROM  
METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCI STRAINS ISOLATED FROM A  
VETERINARY TEACHING HOSPITAL IN BRAZIL.**

**SUMMARY** – The aim of this study was to isolate methicillin-resistant staphylococci (MRS) strains from humans and dogs and verify their susceptibility profile to several antimicrobials in a veterinary teaching hospital in Brazil. Specimens from 50 people and 50 dogs were analyzed to the isolation of staphylococci. They were identified through gram staining, biochemical reactions and resistance to antimicrobials. Susceptibility profile to oxacillin, penicillin, ciprofloxacin, gentamicin, clindamycin, erythromycin, trimethoprim + sulfamethoxazole and vancomycin was verified. It was not isolated any strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* (MRSI). Two strains of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (MRCoNS) were isolated from dogs (4%) and 18 strains were isolated from humans (36%). MRCoNS isolation is important because there is the hypothesis that *mecA* transferring from MRCoNS to coagulase-positive staphylococci could occur. The absence of MRSA strains resistant to vancomycin is important because this antimicrobial could be used as an important alternative against MRSA infections. Surveillance programs aiming MRS should be stimulated in veterinary health units.

**Keywords:** dogs, methicillin-resistance, MRSA, nosocomial, *Staphylococcus* spp, veterinary staff

## I. INTRODUÇÃO

Na década de 1940, a grande maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* era sensível a penicilina. No fim dos anos 50, a espécie *Staphylococcus aureus* tinha adquirido resistência à praticamente todos os antibióticos de uso parenteral, incluindo a eritromicina e a tetraciclina (CHAMBERS, 1988). A introdução das penicilinas resistentes a penicilinas na década de 1960, possibilitou um avanço na terapêutica contra estafilococos. Com o uso das penicilinas semi-sintéticas, surgiram cepas resistentes a meticilina (SOUZA et al., 2005).

Os estafilococos resistentes a meticilina (MRS) são importantes patógenos nosocomiais principalmente os resistentes a vários outros antimicrobianos. A proteína que se liga à penicilina (PBP2a) codificada pelo gene *MecA* é a responsável pela resistência à meticilina (NIEMEYER et al., 1996; CHAMBERS, 1997; GORTEL et al., 1999; NCCLS, 2003a).

As cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) são há várias décadas estudadas em unidades de saúde para seres humanos e há alguns anos têm sido isoladas a partir de unidades veterinárias em diversos países do mundo (SEGUIN et al., 1999; WEESE et al., 2004; BAPTISTE et al., 2005; LOEFFLER et al., 2005; MIDDLETON et al., 2005; O'MAHONY et al., 2005; CUNY et al., 2006; WEESE et al., 2006).

Cada vez mais a presença de MRSA se torna comum em comunidades humanas e parece que isso se reflete também nos animais, com isso, aumentam as chances de ocorrer doenças tanto em animais quanto em seres humanos o que dificulta o controle desse patógeno. (WEESE et al., 2006). Os cães podem atuar como reservatórios de MRSA e representar um risco para a saúde animal e para a saúde pública (BAPTISTE et al., 2005; WEESE et al., 2006).

Como os estafilococos coagulase-negativos são os agentes etiológicos mais comumente implicados em infecções nosocomiais associadas ao uso de catéteres venosos centrais em hospitais humanos (CASEY et al., 2006) a hipotética transmissão

de estafilococos coagulase-negativos multiresistentes dos cães para o homem também poderia ser perigosa.

As quinolonas e cefalosporinas são amplamente utilizadas tanto em medicina humana quanto em medicina veterinária, entretanto cepas de MRS são muitas vezes resistentes a estes e a outros antimicrobianos dificultando o tratamento das infecções causadas por esses microrganismos. A vancomicina é muitas vezes a última opção para combater essas infecções por MRS.

A ausência na literatura de estudos relacionados à prevalência de MRS em unidades veterinárias da América do Sul torna relevante um estudo com o objetivo de isolar estafilococos resistentes a metilina e verificar os seus respectivos perfis de suscetibilidade a diversos antimicrobianos, notadamente a vancomicina.

## II. REVISÃO DE LITERATURA

As bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, e podem ser divididos em duas categorias principais: coagulase-positivos (CoPS) e coagulase-negativos (CoNS) (HOLT et al., 1994; KLOOS & BANNERMAN, 1999; PALAZZO, 2000; KONEMAN et al., 2001; QUINN et al., 2005).

As espécies mais importantes em saúde humana e veterinária pertencem geralmente ao grupo das coagulase-positivas, nesse grupo podemos destacar as espécies: *Staphylococcus aureus* agente causador de mastite bovina e diversos processos supurados em vários animais e no homem, *Staphylococcus intermedius*, causador de enfermidades em cães e gatos, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*, que está implicada em casos de otite em cães e *Staphylococcus hyicus*, causador da epidermite exsudativa em suínos (QUINN et al., 2005; VENGUST et al., 2006). Existem outras espécies coagulase-positivas que acometem animais menos estudados, como *Staphylococcus delphini* (isolada de golfinhos) (VARALDO et al., 1988) e *Staphylococcus lutrae* (isolada de lontras) (FOSTER et al., 1997).

Os estafilococos coagulase-positivos são assim chamados por apresentarem a presença da enzima coagulase, responsável pela conversão de fibrinogênio em fibrina no plasma de diversos animais e no homem (KONEMAN et al., 2001; QUINN et al., 2005), embora o sufixo “ase” sugira que ela hidrolise coágulos, seu efeito é exatamente o oposto, isto é, coagula o plasma (TRABULSI et al., 2004). O plasma mais usado para esse tipo de teste é aquele extraído do sangue de coelho.

Testes adicionais para se distinguir os cocos Gram-positivos são o teste da catalase que diferencia os estafilococos dos estreptococos e os testes da oxidase ou testes da furazolidona/bacitracina usados para diferenciar as cepas de estafilococos dos micrococos (KONEMAN et al., 2001; QUINN et al., 2005).

Os estafilococos coagulase-positivos de importância veterinária são diferenciados através dos testes da produção de DNase, produção de acetoina (Teste

de Voges-Prokauer) e testes da fermentação do manitol, maltose e trealose (QUINN et al., 2005).

Além de ser usada para dividir o gênero *Staphylococcus* a enzima coagulase é um importante fator de virulência na formação de uma cápsula de fibrina que protege as cepas do ataque de células de defesa (ANDERSON, 1986).

Outros fatores de virulência incluem a proteína A que se liga a porção Fc da IgG dificultando a opsonização, faz parte da parede celular e é liberada no meio durante a multiplicação bacteriana. (TALLY & BARG, 2002; TRABULSI et al., 2004; QUINN et al., 2005).

As proteínas formadoras de poros, antes denominadas hemolisinas danificam não apenas células fagocíticas como outras células do hospedeiro (como células endoteliais, nervosas, miocárdicas, etc.), elas atuam criando canais na membrana celular que comprometem significativamente a homeostasia celular (TALLY & BARG, 2002; TRABULSI et al., 2004).

O *S. aureus* também apresenta toxinas responsáveis pela síndrome do choque tóxico (TSST-1 – *toxic shock syndrome toxin-1*); síndrome da pele escaldada (ETA, ETB, ETC e ETD) e intoxicação alimentar (SEA, SEB, SEC<sub>1-3</sub>, SED, SEE, SEG e SEH) (TALLY & BARG, 2002; TRABULSI et al., 2004).

A pele e mecanismos de defesa relacionados são geralmente suficientes para restringir os estafilococos como comensais da pele sem perigo. Entretanto, na presença de fatores predisponentes (estresse interno ou externo nos mecanismos de defesa) os estafilococos podem aderir-se ao tecido e se multiplicarem causando infecção (ANDERSON, 1986).

A resistência à meticilina nos estafilococos é mediada pelo gene *mecA* que codifica uma proteína que se liga à penicilina (PBP2a) , essa proteína pode ser produzida em grande quantidade e conferir resistência aos antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos (NIEMEYER et al., 1996; CHAMBERS, 1997; GORTEL et al., 1999; NCCLS 2003a).

O teste de disco-difusão (Kirby-Bauer) é amplamente aceito e padronizado para diferentes antimicrobianos, entretanto para se confirmar a resistência à meticilina é

necessário realizar o teste de “*screening*” com agar Muller-Hinton hipercloretado com adição de oxacilina ou a detecção do gene *mecA* e para a confirmação da resistência à vancomicina é necessário um teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) (CLSI, 2005).

Os MRSA são importantes causadores de infecções nosocomiais (hospitalares) em unidades de saúde para seres humanos (WEESE et al., 2006; KONEMAN et al., 2001) e já foram isolados de unidades veterinárias em diversos países como: Canadá (WEESE et al., 2004; WEESE et al., 2006); EUA (SEGUIN et al., 1999; MIDDLETON et al., 2005); Irlanda (O’MAHONY et al., 2005); Inglaterra (BAPTISTE et al., 2005; LOEFFLER et al., 2005) e Áustria (CUNY et al., 2006). Além disso, as infecções também podem acontecer fora do ambiente hospitalar, sendo denominadas infecções associadas à comunidade, tornando possível a dispersão de MRSA e dificultando assim o seu controle.

Durante uma conferência de Medicina Veterinária nos EUA foram isolados MRSA de 6,5% de um total de 417 participantes da conferência que aceitaram fazer parte desse estudo, as pessoas portadoras eram oriundas dos EUA, Reino Unido, Dinamarca e Alemanha. Esse estudo mostrou que a colonização por MRSA pode ser um problema ocupacional para veterinários (HANSELMAN et al., 2006).

Foram feitos estudos no Canadá de casos a partir de infecções por MRSA em cães com proprietários, avaliando ambos. Os resultados sugeriram que MRSA podem ser transmitidos entre animais, proprietários e veterinários várias vezes e em várias direções. (WEESE et al., 2006). A transmissão entre humano e cães também foi documentada no Reino Unido (BAPTISTE et al., 2005).

Pesquisando a ocorrência de MRSA em um hospital veterinário no Reino Unido, LOEFFLER et al. (2005) encontraram 17.9% de cepas de MRSA no pessoal do hospital veterinário; 8,9% nos cães e 10% no ambiente. Nesse estudo os autores não encontraram nenhum gato portador de MRSA. Foram isolados estafilococos de 99% dos seres humanos; 83% dos gatos; e 80% de ambiente. Segundo os autores o uso de cefalosporinas e fluorquinolonas poderia auxiliar a seleção e o conseqüente aparecimento de MRSA. Os autores encontraram nos cães e pessoal do hospital

veterinário o clone EMRSA-15, um importante patógeno nosocomial no Reino Unido. Esse resultado reforça a hipótese que as cepas de MRSA presentes em hospitais veterinários são as mesmas encontradas em hospitais humanos, e devem ser carregadas através de seres humanos para os hospitais veterinários.

Em um estudo na Holanda, VAN DUIJKEREN et al. (2004a) verificaram que uma enfermeira portadora de MRSA foi recolonizada repetidamente mesmo após tratamento e que a provável fonte de infecção poderia ser seu bebê ou seu cão portadores de MRSA, e estes provavelmente foram previamente contaminados pela mesma, demonstrando assim a provável transmissão de MRSA do homem para o cão e posterior retransmissão para o homem. Essa cepa de MRSA nesse estudo foi geneticamente semelhante àquela encontrada em surto no hospital no qual a enfermeira trabalhava demonstrando novamente a possível transmissão dos hospitais humanos para as unidades veterinárias.

Foram isolados MRSA de suínos, de um fazendeiro, seu filho e o filho de um veterinário na Holanda e foi sugerido que o contato com suínos pode se tornar um risco substancial de se adquirir MRSA (VOSS et al., 2005). Em outro estudo no mesmo país (WULF et al., 2006) mostrou que veterinários e estudantes de veterinária em contato com animais de produção apresentam um risco maior de serem colonizados por MRSA, mas não se sabe se esse fenômeno é limitado à Holanda ou pode ser estendido a outros países.

No período no qual haviam eqüinos portadores de MRSA em um hospital veterinário no Canadá, WEESE et al. (2004) isolaram MRSA do ambiente em 25 de 260 locais estudados. Embora seja presumível que a contaminação tenha sido feita através de secreção nasal dos portadores ou através de exsudatos de feridas infectadas por MRSA a disseminação aerógena não pode ser descartada. Os resultados desse estudo mostraram a importância da adoção de medidas de controle de infecção nosocomiais em hospitais veterinários, pois o ambiente pode servir como fonte de infecção para o pessoal veterinário, para outros animais, além de dificultar a erradicação de MRSA de animais portadores.

Nos EUA MIDDLETON et al. (2005) estudaram cepas de *S. aureus* isoladas de cães (36), eqüinos (18), bovinos (7), aves (2) e gatos (2) em sete hospitais veterinários de ensino e descobriram que 83% das infecções em cães e eqüinos foram causadas por *S. aureus*. SEGUIN et al. (1999) isolaram cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina de 11 eqüinos e de cinco voluntários em um hospital veterinário de ensino, e houveram indícios de que os membros do hospital veterinário foram a fonte primária de infecção dos eqüinos, embora o modo específico de transmissão não tenha ficado claro.

MANIAN (2003) isolou MRSA resistente à mupirocina (droga de primeira linha para tratamento tópico de narinas de pessoas portadoras de MRSA) nas narinas de um cão assintomático de um paciente humano diabético com uma ferida na perna contaminada com MRSA, após o tratamento, esse homem foi re-colonizado por MRSA e o ciclo de transmissão só se encerrou após a erradicação de MRSA do cão, sugerindo que o animal teve papel indispensável nesse ciclo transmissão. Além disso, o autor encontrou o mesmo padrão genético nas cepas isoladas do cão e do homem utilizando eletroforese de campo pulsado (PFGE).

Em um estudo realizado na Eslovênia, com 300 eqüinos e 200 cães clinicamente normais na comunidade, VENGUST et al. (2006) não encontraram eqüinos e cães portadores de MRSA. Entretanto 126 dos eqüinos e 23 cães eram portadores de CoNS resistentes a meticilina, além de 3 cães que apresentarem MRSI (*S. intermedius* resistente à meticilina). Embora não tenha sido encontrado MRSA, esse dado é preocupante pela possibilidade da transferência plasmidial do gene *mecA* entre as espécies e pela adaptação desses CoNS ao homem e animais.

A emergência de MRSA em cães mantidos dentro de casa pode ser um problema para a saúde animal e como esses animais podem ser fontes de infecção para seres humanos, um problema de saúde pública (BAPTISTE et al., 2005; WEESE et al., 2006), além disso, *S. intermedius* já foi isolado de otite em uma mulher nos EUA, sendo provavelmente transmitido por seu cão (TANNER et al., 2000), o que preocupa pela possível transmissão de *S. intermedius* para o pessoal veterinário, embora isso pareça ser raro (MAHOUDEAU et al., 1997)

As cepas de MRSA que habitam animais são geneticamente parecidas com aquelas que habitam seres humanos (LOEFFLER et al., 2005; WEESE et al., 2006). Esse fato sugere que os animais adquirem MRSA por contato com seres humanos colonizados em oposição as hipóteses do surgimento de MRSA específicos de origem veterinária ou da aquisição do gene *mecA* por cepas anteriormente sensíveis a meticilina.

Quando o isolamento de MRSA se torna comum em comunidades humanas, parece que isso se reflete nos animais, sendo que isso pode aumentar as chances de acontecerem doenças tanto em animais quanto em seres humanos, e dificultar o controle desse patógeno. (WEESE et al., 2006). A emergência de MRSA em animais deve ocorrer através da dispersão de cepas de MRSA ou da transferência do gene *mecA* dos CoNS para *S. aureus* comensais segundo VENGUST et al. (2006).

As sulfanamidas são análogos estruturais do ácido p-aminobenzóico (PABA), uma substância essencial para a síntese de ácido fólico, o qual, por sua vez, quando em sua forma reduzida (ácido tetraidrofólico) é fundamental para a síntese de DNA e RNA bacteriano: portanto as sulfas funcionam como um antimetabólico. A resistência bacteriana às sulfas normalmente ocorre de maneira lenta e gradual. Entretanto, uma vez estabelecida é persistente e irreversível. São conhecidas várias formas de resistência as sulfas, entre elas: aumento da capacidade do microrganismo de inativar o quimioterápico, caminho metabólico alternativo para a formação de ácido fólico e aumento da produção de PABA pelas bactérias (GÓRNIAK, 1999).

As penicilinas e as cefalosporinas são polipeptídeos, cuja estrutura química tem um anel beta-lactâmico. Ambos os grupos de antibióticos impedem a síntese da parede celular. As cefalosporinas de primeira geração são aquelas que iniciaram este grupo de antibióticos, caracterizadas por espectro de ação antimicrobiano mais estreito, atuando predominantemente sobre bactérias Gram-positivas (SPINOSA, 1999). A resistência a penicilina está espalhada nos estafilococos isolados de animais, entretanto a resistência à meticilina continua sendo rara (WERCKENTHIN et al., 2001).

A clindamicina, que é um derivado da lincomicina, inibe a síntese de proteínas atuando na subunidade ribossomal 50S das bactérias. (DHAWAN & THADEPALLI,

1982). Em um estudo no Canadá, HOEKSTRA & PAULTON (2002) encontraram um nível de resistência de 94% de cepas de *S. aureus* isoladas do ouvido de cães em relação a lincomicina.

As quinolonas (como a enrofloxacina) atuam na enzima DNA girase impedindo a replicação do DNA bacteriano, esses antimicrobianos têm sido usados em larga escala em unidades de saúde humanas e veterinárias. A vancomicina é muitas vezes a única droga a qual cepas de MRSA são sensíveis (WEESE, 2005). Existe a possibilidade do tratamento de infecções causadas por MRSA de origem comunitária pela ciprofloxacina, poupando dessa forma a vancomicina (SHOPSIN et al., 2004).

### **III. OBJETIVOS**

1. Verificar o percentual de isolamento de estafilococos resistentes a meticilina em cães e humanos (estudantes, funcionários e veterinários) no Hospital Veterinário da FCAVJ – UNESP;
2. Classificar as cepas de estafilococos isoladas;
3. Verificar o perfil de suscetibilidade das cepas isoladas por disco-difusão e confirmar a resistência à meticilina por PCR e à vancomicina através da CIM.

## **IV. MATERIAL E MÉTODOS**

### **População estudada**

Foram analisados 50 cães e 50 pessoas (estudantes, funcionários e veterinários) somente no setor de pequenos animais de um único hospital veterinário de ensino na cidade de Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil. Essa amostragem representa aproximadamente 95% e 90% da população de cães e pessoas respectivamente nesse hospital. As amostras foram colhidas em um único dia em Janeiro de 2007. Esse estudo foi autorizado pela comissão de ética e bem-estar animal da FCAVJ - UNESP.

### **Obtenção das amostras**

As amostras foram colhidas através de suabes estéreis colocados dentro de tubos de ensaio contendo 2,0 mL de caldo infusão cérebro coração (BHI) (Oxoid) suplementado com NaCl tendo concentração final de 6% desse sal. Esses suabes foram passados na pele (mãos nas pessoas e períneo nos cães) e narinas (em pessoas e cães) (VENGUST et al., 2006) do hospital veterinário da FCAVJ-UNESP.

### **Procedimento das amostras:**

Os suabes, dentro do tubo de ensaio, contendo o material colhido foram incubados em estufa à temperatura de 35° C por 24-48 horas. Dos tubos contendo os suabes, após a incubação, foram retirados com alça de platina as culturas e semeadas por esgotamento em Agar *Staphylococcus* Medium 110 (Difco). Essas placas foram incubadas à temperatura de 35° C por 48 horas. Após a incubação das placas foram observados seu crescimento e aquelas que apresentaram colônias típicas foram guardadas em geladeira a 8°C.

## **Isolamento e identificação**

### **Isolamento**

As colônias que cresceram foram analisadas macroscopicamente quanto à morfologia (lisas ou rugosas) e produção ou não de pigmento (amarelo ou branco), tamanho (1 a 2 mm de diâmetro) e tipo de borda (contínua ou não) (KONEMAN et al., 2001; QUINN et al.; 2005). As colônias suspeitas foram colhidas (três por placa) com alça de platina e transferidas para tubos de ensaio contendo 5 mL de agar nutriente (DIFCO) de forma inclinada. Esses tubos foram colocados em estufa a 37° C por 24 horas. Após esse período de incubação os tubos foram vedados com rolhas de borracha previamente esterilizadas e estocados à temperatura de geladeira até o momento de elaboração das provas.

### **Provas para a identificação do gênero *Staphylococcus***

As amostras estocadas foram repicadas em placas com agar nutriente (Oxoid), as placas foram divididas em quatro partes, e em cada parte foi semeada uma amostra. Em seguida foi realizada observação da morfologia do microorganismo através do método de Gram, a prova da catalase e da sensibilidade a furazolidona e a bacitracina.

### **Classificação morfo-tintorial através do método de Gram:**

Com uma alça de platina foi colhido um pequeno inóculo da cultura repicada e foi feito um esfregaço em lâmina de vidro e fixado pelo calor. Em seguida, o esfregaço foi corado pelo método de Gram e a lâmina foi observada em microscópio óptico com objetiva de imersão (100X). As colônias cujos esfregaços demonstraram a presença de cocos Gram-positivos em forma de cacho de uva foram submetidas aos outros testes para caracterização do gênero.

**Teste da catalase:**

Sobre uma lâmina de microscopia limpa e seca foi depositada uma gota de água oxigenada a 3% e misturada a uma alçada da cultura. O desprendimento imediato de gás com formação de bolhas foi considerado resultado positivo. (MAC FADDIN, 1976; KONEMAN et al., 2001).

**Teste da sensibilidade à furazolidona e à bacitracina.**

Foi utilizado o método descrito por KONEMAN et al. (2001) com modificações, uma alçada da cultura foi repicada em caldo BHI a 35°C até a suspensão atingir a turvação equivalente ao padrão 0,5 de MacFarland, utilizando um suabe estéril a suspensão foi distribuída em uma placa de agar Muller Hinton (Oxoid) e em condições estéreis foram colocados um disco de furazolidona (100 µg) (Cecon) e um disco de bacitracina (0,04 UI) (Cecon). A placa então foi incubada a 35°C durante 24h. Os halos de inibição formados foram medidos com régua. Foram consideradas sensíveis as cepas cujos halos de inibição a furazolidona e bacitracina foram respectivamente iguais ou maiores a 15 mm e 10 mm e, resistentes aquelas cujos halos foram menores que 9 mm e 10 mm (KLOOS & BANNERMAN, 1999; KONEMAN et al., 2001). Os resultados dos testes de sensibilidade frente à furazolidona e a bacitracina foram utilizados juntamente com a coloração de Gram e o teste da catalase para a caracterização do gênero *Staphylococcus*.

**Provas para a identificação das espécies**

As cepas identificadas como pertencentes ao gênero *Staphylococcus* foram submetidas a outros testes para a identificação das espécies alvo desse estudo.

### **Prova de coagulase em tubo**

A pesquisa da produção da enzima coagulase foi realizada pela técnica em tubo, segundo SPERBER & TATINI (1975) com pequenas modificações.

As cepas testadas foram incubadas a 35°C por 24h em caldo BHI. Em um tubo de hemólise previamente esterilizado foram depositados 0,5 mL do caldo e 0,5 mL de plasma de coelho com EDTA. Os tubos foram incubados em banho maria a 35°C e examinados após 2, 4 e 24h. A formação de fibrina, demonstrada através do aparecimento de coágulo, foi considerada como resultado positivo para essa prova.

### **Prova da coagulase em lâmina**

Sobre uma lâmina de microscopia, limpa e seca foram depositadas uma alçada da cultura e uma gota de plasma de coelho com EDTA e misturadas. Uma reação positiva, demonstrando a presença de coagulase ligada ou fator de aglutinação (clumping factor) na superfície bacteriana foi indicada pela aglutinação das bactérias no intervalo de 1 minuto (QUINN et. al., 2005).

### **Prova de DNase**

Esta enzima foi pesquisada utilizando-se o meio DNase Test Agar (Biolife) conforme a técnica descrita por PALAZZO (2000). Para cada placa contendo o meio de DNase Test Agar foram semeadas quatro cepas isoladas e incubadas a 35 ° C por 48 horas. Após o período de incubação, as placas foram inundadas com solução de ácido clorídrico 1 N, visando a precipitação do DNA íntegro. As leituras foram realizadas após um período de 10 minutos. A formação de halo claro ao redor do ponto de semeadura, decorrente da hidrólise do DNA por ação da enzima DNase foi considerado resultado positivo para esta prova.

### **Teste da fermentação do manitol**

As colônias foram repicadas em placas contendo Agar Sal Manitol (Oxoid) (4 por placa) e incubadas por 48 horas em estufa a 35 °C. Foram realizadas leituras em 24 e 48h de incubação. A mudança da cor do meio de vermelho para amarela indicou a fermentação do manitol e foi considerado resultado positivo para esse teste.

### **Teste da fermentação da manose, rafinose, sacarose, trealose e xilose**

Ao caldo base vermelho de fenol previamente esterilizado foi adicionado 1% de carboidrato (manose, rafinose, sacarose, trealose e xilose). Foram depositados 1 mL do caldo resultante em tubos de ensaio com tampas de algodão previamente esterilizados. O caldo nos tubos foi então tratado por vapor fluente a 100°C em autoclave por 30 min. Foi depositada uma alçada de cada cultura estocada no caldo e os tubos foram incubados por 24h a 35°C. A mudança da cor vermelha para a cor amarela foi considerada como resultado positivo para esse teste (MAC FADDIN, 1976).

### **Teste da fermentação da maltose**

O meio utilizado foi o agar púrpura de bromocresol autoclavado suplementado com maltose previamente tratada por vapor fluente a 100°C em autoclave por 30 min. A concentração final foi de 1% de maltose. As placas foram divididas em quatro partes e em cada parte foi semeada uma amostra da cultura estocada e incubadas a 35°C por 24h. A mudança da cor do meio de púrpura para amarelo foi considerada resultado positivo para essa prova (QUINN et al., 2005).

### **Teste de Voges-Proskauer (VP)**

Foi repicada uma alçada de cada colônia estocada para tubos de hemólise com tampas de algodão estéreis contendo 1 mL de caldo MRVP (meio de Clark e Lubs) esterilizado. Os tubos inoculados com o repique foram incubados a 35°C por 24h e em seguida foram destampados e foram adicionados 0,6 mL de solução alcoólica 5% de  $\alpha$ -naftol e 0,2 mL de solução 40% de KaOH nessa ordem. Os tubos foram agitados para expor o meio ao oxigênio e mantidos em repouso por 15 min. O desenvolvimento de uma linha avermelhada na parte superior do tubo foi considerado resultado positivo, indicando a presença de diacetina, o produto de oxidação da acetoína (MAC FADDIN, 1976; KONEMAN et al., 2001).

### **Provas de suscetibilidade a antimicrobianos**

#### **Teste de disco-difusão (Kirby-Bauer)**

Todas as cepas de estafilococos foram submetidas a teste de suscetibilidade frente aos seguintes antimicrobianos: penicilina (10UI), oxacilina (1 $\mu$ g), ciprofloxacina (5 $\mu$ g), gentamicina (10 $\mu$ g), clindamicina (2 $\mu$ g), eritromicina (15 $\mu$ g), sulfametoxazol+trimetoprim (25 $\mu$ g) e vancomicina (30 $\mu$ g). O método usado foi o preconizado pelo (NCCLS 2003b). Para a realização desses testes as cepas isoladas foram repicadas em tubos contendo 3mL de caldo BHI e incubadas a 35° C até atingirem o padrão 0,5 na escala MacFarland. Após a incubação as culturas diluídas foram semeadas com o auxílio de suabes estéreis em placas contendo Agar Mueller-Hinton e, após aproximadamente 3 minutos, tempo necessário para a secagem da superfície do meio foram colocados os discos (Cecon) contendo os antimicrobianos. A leitura foi realizada após 18h de incubação a 35° C através da medida dos halos de inibição, com a utilização de régua milimetrada. Os diâmetros obtidos em milímetros foram comparados com uma tabela (CLSI 2005).

### **Teste da concentração inibitória mínima (CIM) em tubo da vancomicina.**

Para a realização desses testes as cepas isoladas foram repicadas em tubos contendo 3 mL de caldo BHI e incubadas a 35° C até atingirem o padrão 0,5 na escala MacFarland. Após a incubação 1 mL das culturas diluídas foram inoculadas em tubos contendo 1 mL de caldo BHI contendo o dobro das concentrações de vancomicina procuradas, perfazendo um tubo com 2 mL com a concentração final desejada (NCCLS 2003a). Também foi inoculado 1 mL da cultura diluída em 1 mL de caldo BHI sem antimicrobianos como controle para cada cepa. A ausência de turvação após incubação por 24h foi indicativa de sensibilidade ao antimicrobiano.

### **Deteção do gene *MecA* através de reação de cadeia de polimerase (PCR)**

#### **Extração e quantificação do DNA genômico bacteriano**

Uma alçada da cultura estocada foi repicada em 1 mL de caldo BHI por 12 horas a 35°C em um tubo de ensaio, todo o volume foi transferido para um microtubo de 1,5 mL e centrifugado a 5000 rpm por 4 min. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi lavado 3 vezes com 200µl de tampão TE. Posteriormente o *pellet* foi ressuspendido em 100 µl de tampão TE, os microtubos foram aquecidos a 95°C em banho-maria por 10 min e então centrifugados a 5000 rpm por 20 seg. O sobrenadante (100µL) foi transferido para um microtubo de 500µL, congelado a -20°C e estocado. O DNA foi quantificado em espectrofotômetro, usando 2 µL do DNA total e 98 µL de água mili-Q do DNA estocado. Após a quantificação foi feita uma diluição de cada amostra usando o DNA estocado e água milli-Q em uma placa de 96 poços de forma que a concentração final de cada amostra fosse de 15 ng/µL.

### **Execução da PCR e análise do seu produto**

As reações foram feitas segundo GORTEL et al. (1999) com modificações estabelecidas por NEVES et al. (2007). Os oligonucleotídeos iniciadores (primers) utilizados para a detecção de um fragmento de 533 pb foram: 5' AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C 3' e 5' AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C 3'. Foram utilizadas placas de PCR com 96 poços utilizando 2 $\mu$ L do DNA diluído previamente (30ng); 2,5 $\mu$ L de tampão de PCR 1x (KCl 50 mM, TRIS-HCl 200mM, pH 8,4); 2,5U de *Taq* DNA polimerase; 0,2mM de dNTP; 1,5mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 $\mu$ g de cada "primer" e água milli Q estéril até completar o volume da reação em 20  $\mu$ L. As amostras foram colocadas em um termociclador e sofreram o seguinte ciclo: 2 min a 94°C; 1 min a 94°C; 2 min a 52°C; 2 min a 72°C; 39 ciclos a partir do passo 2; 5 min a 72°C e manutenção das amostras sob refrigeração a 5°C. Todos os produtos após o processo de amplificação foram analisados em gel de agarose com brometo de etídio a 1,5% e processados a 65V, durante 1h 30min.

## V. RESULTADOS

Foram encontradas 20 cepas de estafilococos que apresentaram a presença do gene *MecA* por PCR, todos coagulase-negativos (MRCoNS), estas foram encontrados em duas (4%) amostras de cães e 18 (36%) de seres humanos. Não foram isoladas cepas de MRSA e MRSI. A espécie *S. schleiferi* subsp. *coagulans* não foi isolada. Não foram isoladas cepas de *S. intermedius* em humanos e de *S. aureus* em cães. Nenhuma cepa de MRS foi considerada resistente à vancomicina utilizando-se a CIM. A figura 1 mostra a amplificação do fragmento de 533 pb do gene *MecA* em 6 cepas de MRCoNS. Na tabela 1 pode-se observar o perfil de suscetibilidade e a identificação das espécies das cepas de MRS isoladas de cães e pessoas

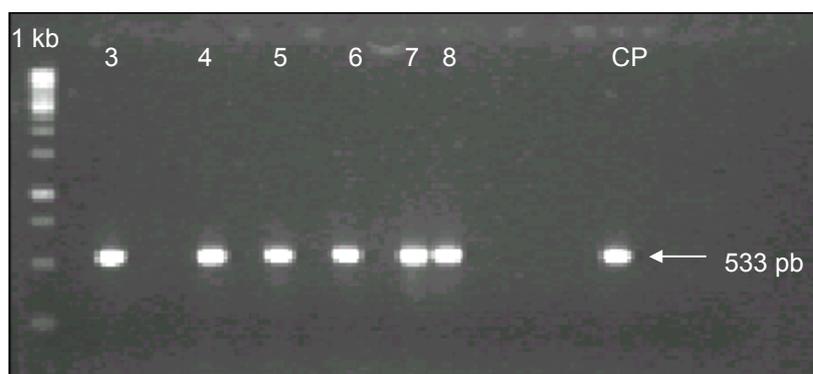


Figura 1. Resultado após a corrida eletroforética em gel de agarose do produto de PCR de seis cepas *mecA* positivas. Estas cepas correspondem àquelas demonstradas na tabela 1. CP corresponde ao controle positivo. Foi usado marcador de 1 kb.

Tabela 1. Classificação das 20 cepas de estafilococos resistentes a metilina isoladas e determinação de seus perfis de suscetibilidade \*†.

Nº	Espécie	Fonte	Local	ERI	CLI	GEN	CIP	SUT	PEN	VAN
1	<i>S. epidermidis</i>	Cão	Pele	R	S	R	S	R	R	S
2	<i>S. simulans</i>	Cão	Pele	I	R	S	S	S	R	S
3	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	R	R	R	R	R	S
4	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	R	R	R	S	R	S
5	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	R	R	I	S	R	S
6	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	I	I	R	R	R	R	S
7	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	R	I	R	S	R	S
8	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	I	S	R	S	R	S
9	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	I	R	S	S	R	S
10	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	I	R	S	S	R	S
11	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	I	R	I	S	R	S
12	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	I	S	R	S	R	S
13	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	S	S	S	S	R	S
14	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	R	I	S	S	S	R	S
15	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	I	I	S	S	S	R	S
16	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	I	I	I	S	S	R	S
17	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Narina	I	I	S	S	S	R	S
18	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Pele	R	I	I	I	S	R	S
19	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Pele	R	I	S	S	R	R	S
20	<i>S. epidermidis</i>	Humano	Pele	I	S	S	S	S	R	S

\* Eritromicina (ERI), Clindamicina (CLI), Gentamicina (GEN), Ciprofloxacina (CIP), Sulfametoxazol + Trimetoprim (SUT), Penicilina (PEN) e Vancomicina (VAN);

† R - resistente, I - intermediário, S – susceptível.

## VI. DISCUSSÃO

O fato de não ter sido encontradas cepas de MRSA em humanos e cães nesse hospital veterinário é importante, entretanto, mais estudos devem ser feitos em outros hospitais veterinários no Brasil para se ter mais dados sobre prevalência de MRS para serem comparados com dados de outros países. Um dos motivos para se justificar a ausência de MRSA em cães pode ser o fato de que nos diferentes estudos que isolaram MRSA de cães as cepas foram isoladas a partir de espécimes clínicos (GORTEL et al., 1999; VAN DUIJKEREN et al., 2004b) enquanto nesse estudo as cepas foram isoladas a partir de animais sem infecções estafilocócicas. Na Eslovênia não foram encontradas cepas de MRSA a partir de cães saudáveis (VENGUST et al., 2006) e num estudo realizado na Inglaterra, considerando somente os cães que visitaram o hospital (não espécimes clínicos), não foi encontrado MRSA (BAPTISTE et al., 2005; BAGCIGIL et al., 2007). Esses fatos mostram que talvez seja mais fácil isolar MRSA de espécimes clínicos do que de regiões colonizáveis (pele e narina) nos cães.

O percentual de isolamento de MRCoNS dos cães nesse estudo (4%) foi semelhante ao percentual de isolamento de MRS em espécimes clínicos de diversos animais (3,2%) (VAN DUIJKEREN et al., 2004b), semelhante ao percentual de MRCoNS encontrado em cães de um hospital veterinário na Inglaterra (6%) (BAPTISTE et al., 2005) mas diferente do percentual de MRCoNS isolado de cães saudáveis na Eslovênia (11,5%) (VENGUST et al., 2006) e cães atendidos em um hospital veterinário na Dinamarca (13%) (BAGCIGIL et al., 2007). Em equinos existe a hipótese de que MRCoNS poderiam competir melhor com estafilococos coagulase-negativos sensíveis a metilina fora do ambiente no qual antimicrobianos estão presentes e assim aumentarem a sua prevalência (BAPTISTE et al., 2005) mas em cães isso não parece acontecer pois os mesmos autores encontraram uma prevalência pouco menor de MRCoNS (5%) nos cães da comunidade em relação aos cães que visitam hospitais (6%).

A ausência de dados sobre a prevalência de MRCoNS em portadores humanos em hospitais veterinários dificulta a comparação do nível de prevalência encontrado nesse estudo. Entretanto, em hospitais humanos essa prevalência oscila muito o que pode também acontecer em hospitais veterinários. A frequência de isolamento nesse estudo dos humanos (36%) comparada a dos cães (4%) sugere que a colonização humana é mais fácil em relação à canina.

A ausência de cepas resistentes a vancomicina foi semelhante a estudos anteriores realizados com cães (GORTEL et al., 1999) e vários animais (VAN DUIJKEREN et al., 2004b) o que é extremamente importante pois a vancomicina é uma droga de referência para o combate a infecções causadas por MRSA (WEESE, 2005).

Depois da vancomicina (0%) a droga que apresentou menor nível de resistência entre todos MRS foi o sulfametoxazol+trimetoprim (20%) resultado menor do que o encontrado em outro estudo realizado somente com isolados de cães (39%) (GORTEL et al., 1999). Esta associação de quimioterápicos tem sido usada no tratamento de infecção por MRSA resistentes a vancomicina o que torna importante a vigilância nos níveis de resistência desses antimicrobianos (WEESE, 2005).

O nível de resistência ou suscetibilidade intermediária dos MRS nesse estudo frente a ciprofloxacina (45%) foi semelhante ao do trabalho realizado somente com isolados de cães (57%) (GORTEL et al., 1999) e embora não demonstre aumento no perfil de resistência causa preocupação pois as quinolonas tem sido largamente utilizadas na prática veterinária e a diminuição na sua eficiência pode comprometer o tratamento das doenças de origem bacteriana, além disso juntamente com as cefalosporinas (também muito utilizadas) poderiam auxiliar a seleção e o conseqüente aparecimento de MRSA (LOEFFLER et al., 2005).

A ausência de cepas suscetíveis a eritromicina de cepas de MRCoNS nesse estudo difere do estudo com várias espécies de MRCoNS isolados de cães e eqüinos (0-50%) (BAGCIGIL et al., 2007). É um dado intrigante pois nesse hospital o uso de macrolídeos não é amplo, portanto essas cepas poderiam ter origem extra-hospitalar.

O fato de terem sido encontradas cepas de MRCoNS multirresistentes não é surpresa uma vez que esse fato já foi documentado em amostras provenientes de

animais (VAN DUIJKEREN et al., 2004b), o que leva a pensar que o uso de vários antimicrobianos auxilie a seleção de MRCoNS multirresistentes. Uma vez que os estafilococos coagulase-negativos são os agentes etiológicos mais comuns implicados em infecções nosocomiais associadas ao uso de catéteres venosos centrais em hospitais humanos (CASEY et al., 2006) a hipotética transmissão de MRCoNS multiresistentes dos cães para o homem poderia ser perigosa.

É possível que as cepas de MRCoNS tenham sido originadas no próprio hospital (através de pressão seletiva) ou trazidas até o hospital oriundas da comunidade ou de hospitais humanos. Estudos realizados demonstram que algumas cepas de MRSA isoladas de cães e humanos, em unidades veterinárias, são geneticamente parecidas com aquela cepa epidêmica EMRSA-15 isolada de humano predominante no Reino Unido (BAPTISTE et al., 2005; O'MAHONY et al., 2005) ou geneticamente diversas sugerindo que tenham sido adquiridas a partir da comunidade (MIDDLETON et al., 2005). Entretanto, existem dúvidas se estas possibilidades também podem existir em relação a cepas de MRCoNS, embora isto seja um ponto importante, pois hipoteticamente as cepas de CoNS, portadoras do gene *MecA*, poderiam transmitir essa característica para cepas comensais de *S. aureus* (CHAMBERS, 1997; VENGUST et al., 2006).

Programas de vigilância de agentes causadores de infecções nosocomiais já existem há muitos anos em hospitais humanos e devem ser estimulados em hospitais veterinários particulares e públicos, pois a emergência de cepas multirresistentes nesse ambiente ocasiona um provável perigo à saúde pública e a saúde animal.

## **VII. Conclusões**

1. Não foram isoladas cepas de MRSA e MRSl;
2. Foram isolados MRCoNS de 4% dos cães e 36 % de pessoas (estudantes, funcionários e veterinários) do hospital veterinário, a resistência à metilina foi confirmada por PCR nessas amostras;
3. Não foram encontradas cepas resistentes a vancomicina, porém foram encontradas cepas de MRCoNS com multirresistência.

## VIII. IMPLICAÇÕES

O uso de antibióticos beta-lactâmicos é muito comum para o tratamento de infecções causadas por *S. intermedius* em cães e particularmente nesse hospital o uso da cefalotina é disseminado. Embora nesse estudo não tenham sido isoladas cepas de *S. intermedius* resistentes a metilina (MRSI), esse tipo de microorganismo já foi documentados em outros trabalhos (GORTTEL et al., 1999; VENGUST et al., 2006). É importante alertar os clínicos de pequenos animais no sentido de atentarem para o uso racional de antimicrobianos na prática clínica para diminuir a pressão de seleção sobre as cepas de *S. intermedius*, pois já foram encontradas cepas de MRSI multirresistentes em cães com piodermite (LOEFFLER et al., 2007) e a emergência desse tipo de microorganismo pode dificultar o tratamento das enfermidades dos animais, além de poder causar um risco a saúde pública.

O aumento da oferta de serviços de medicina veterinária intensiva tende a aumentar o tempo de internação e conseqüentemente os casos de infecções nosocomiais em medicina veterinária que historicamente não são documentados. Foi isolado MRSA em 23% dos animais (cães e gatos) em uma unidade veterinária de terapia intensiva no Canadá (WEESE et al., 2007). Não houve sinais clínicos de infecção mas indica o risco de nova fonte infecção para seres humanos e animais. É possível que o incremento nos serviços intensivos em pequenos animais acompanhe o aumento do risco dos animais contraírem infecções hospitalares.

Observações complementares são necessárias para verificar se é possível a transmissão do gene *MecA* entre cepas de MRSI e MRCoNS para cepas *S. aureus* sensíveis a metilina. Entretanto, enquanto não for provada que não acontece transmissão horizontal desse gene, a vigilância desses microorganismos deve ser realizada e incluída nos programas de controle de infecção, que começam a existir em unidades veterinárias (WEESE, 2005). Esse tipo de programa se torna de suma importância tanto pela emergência de MRSA como zoonose quanto para prevenção de doenças nos próprios animais. Os programas de vigilância também deveriam atuar no

ambiente, pois cepas de MRSA já foram isoladas do ambiente em hospitais veterinários, embora este esteja pouco implicado nos casos de infecções nosocomiais em hospitais humanos, sua importância em hospitais veterinários é desconhecida. (WEEE et al., 2004). Além de programas de vigilância o estímulo à mudança de comportamento como, por exemplo, o uso de equipamentos de segurança (como máscaras) deve ser estimulado em casos de suspeita da presença de MRSA no ambiente uma vez que as narinas são locais facilmente colonizáveis.

Talvez o que dificulte a implantação de programas de vigilância e instruções para a mudança de comportamento no mundo todo seja a falta de informação e padronização das normas em diversos países, o que contrasta com os programas em hospitais humanos que são implantados na maior parte do mundo, entretanto esse desafio deve ser enfrentado.

## IX. REFERÊNCIAS

ANDERSON, J. C. *Staphylococcus* In: GYLES, C. L. & THOEN, C. O. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. Ames: Iowa State University Press, 1986. p. 14-20.

BAGCIGIL, F. A.; MOODLEY, A.; BAPTISTE, K. E.; JENSEN, V. F.; GUARDABASSI, L. Occurrence, species distribution, antimicrobial resistance and clonality methicillin- and erythromycin-resistant staphylococci in the nasal cavity of domestic animals. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 121, n. 3-4, p. 307-315, 2007.

BAPTISTE, K. E.; WILLIAMS, K.; WILLIAMS, N. J.; WATTRET, A.; CLEGG, P. D.; DAWSON, S.; CORKILL, J. E.; O'NEILL, T.; HART, C. A. Methicillin-resistant *Staphylococci* in Companion Animals. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 12, p. 1942-1944-1938, 2005.

CASEY, A. L., WORTHINGTON, T., CADDICK, J. M., HILTON, A. C., LAMBERT, P. A., ELLIOTT, T. S. J. RAPD for the typing of coagulase-negative staphylococci implicated in catheter-related bloodstream infection. **Journal of Infection**, London, v. 52, n. 4, p. 282-289, 2006.

CHAMBERS, H. F. Methicillin resistant staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 1, n. 2, p. 173-186, 1988.

CHAMBERS, H. F. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 10, n. 4, p. 781-791, 1997.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE/NCCLS. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Document M100-S15.** Wayne: NCCLS, 2005. 117p.

CUNY, C.; KUEMMERLE, J.; STANEK, C.; WILLEY, B.; STROMMINGER, B.; WITTE, W. Emergence of MRSA infections in horses in a veterinary hospital: strain characterisation and comparison with MRSA from humans. **Eurosurveillance**, London, v. 11, n. 1-3, p. 44-47, 2006.

DHAWAN, V. K. & THADEPALLI, H. Clindamycin: a review of fifteen years of experience. **Reviews of infectious diseases**, Chicago, v. 4, n. 6, p. 1133-1153, 1982.

FOSTER, G H.; ROSS, H. M.; HUTSON, R. A.; COLLINS, M. D. *Staphylococcus lutrae* sp. nov., a new coagulase-positive species isolated from otters. **International Journal of Systematics Bacteriology**, Washington, v. 47, n. 3, p. 724-726, 1997.

GÓRNIAK, S. L. Quimioterápicos. In: SPINOSA, H. S., GÓRNIAK, S. L.; BERNARDI, M. .M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 379-388.

GORTEL, K., CAMPBELL, K. L., KAKOMA, I., WHITTEM, T., SCHAEFFER, D. J.; WEISIGER, R. M. Methicillin resistance among staphylococci isolated from dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 60, n. 12, p. 1526-1530, 1999.

HANSELMAN, B. A.; KRUTH, S. A.; ROUSSEAU, J.; LOW, D. E.; WILLEY, B. M.; MCGEER, A.; WEESE, J. S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in veterinary personnel. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 12, n. 12, p. 1933-1938, 2006.

HOEKSTRA, K. A. & PAULTON, R. J. L. Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staph. Intermedius* in dogs. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 93, n. 3, p. 406-413. 2002.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALLEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787p.

KLOOS, W. E. & BANNERMAN, T. L.; *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of Clinical Microbiology**. 7. ed. Washington: American Society for Microbiology Press, 1999. p. 264-282.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR., W.C. **Diagnóstico Microbiológico**. 5. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. 1465 p.

LOEFFLER, A.; BOAG, A. K.; SUNG, J.; LINDSAY, J. A.; GUARDABASSI, L.; DALSGAARD, A.; SMITH, H.; STEVENS, K. B.; LLOYD, L. H. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in small animal referral hospital in the UK. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, v. 56, n. 4, p. 692-697, 2005.

LOEFFLER, A.; LINEK, M.; MOODLEY, A.; GUARDABASSI, L.; SUNG, J. M.; WINKLER, M.; WEISS, R; LLOYD, D. H. First report of multiresistant, *MecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 18, n. 6, p. 412-421, 2007.

MAC FADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 1976. 312p.

MAHOUDEAU, I.; DELABRANCHE, X.; PREVOST, G.; MONTEIL, H.; PIEMONT, Y. Frequency of isolation of *Staphylococcus intermedius* from humans. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 35, n 8, p. 2153-2154, 1997.

MANIAN, F. A.. Asymptomatic Nasal Carriage of Mupirocin-Resistant, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 36, n. 2, p. e26-e28, 2003.

MIDDLETON, J. R.; FALES, W. H.; LUBY, C. D.; OAKS, J. L.; SANCHEZ, S.; KINYON, J. M.; WU, C. C.; MADDOX, C. W.; WELSH, R. D.; HARTMANN, F. Surveillance of *Staphylococcus aureus* in veterinary teaching hospitals. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 43, n. 6, p. 2916-2919, 2005.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standards. Document M7-A6.** Wayne, PA: NCCLS, 2003a. 53 p.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards. Document M2-A8.** Wayne, PA: NCCLS, 2003b. 58 p.

NEVES, M. C.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; ALVES, E. C. C.; LEMOS, M. V. F. Detecção de genes de resistência antimicrobiana em cromossomos e plasmídeos de *Staphylococcus* spp. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 3, p. 207-213, 2007.

NIEMEYER D. M.; PUCCI, M. J.; THANASSI, J. A.; SHARMA, V. K.; ARCHER, V. L. Role of *mecA* transcriptional regulation in the phenotypic expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 178, n. 18, p. 5464-5471, 1996.

O'MAHONY, R.; ABBOTT, Y.; LEONARD, F. C.; MARKEY, B. K., QUINN, P. J.; POLLOCK, P. J.; FANNING, S.; ROSSNEY, A. S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel in Ireland. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 109, n. 3-4, p. 285-296, 2005.

PALAZZO, I. C. V. **Detecção de estafilococos resistentes à meticilina e vancomicina em portadores humanos em ambiente intra e extra hospitalar**. 2000. 78 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512 p.

SEGUIN, J. C.; WALKER, R. D.; CARON, J. P.; KLOOS, W. E.; GEORGE, C. G.; HOLLIS, R. J.; JONES, R. N.; PFALLER, M. A. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Outbreak in a Veterinary Teaching Hospital: Potential Human-to-Animal Transmission. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 37, n. 5, p. 1459-1463, 1999.

SHOPSIN, B.; ZHAO, X.; KREISWIRTH, B. N.; TILLOTSON, G. S.; DRLICA, K. Are the new quinolones appropriate treatment for community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 24, n. 1, p. 32-34, 2004.

SOUZA, M. V.; REIS, C.; PIMENTA, F. C. Revisão sobre a aquisição gradual de resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 1, p. 27-36, 2005.

SPERBER, W. H. & TATINI, S. R. Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. **Applied microbiology**, Washington, v. 29, n. 4, p. 502-505, 1975.

SPINOSA, H. S. Antibióticos Beta-Lactâmicos: Penicilinas e Cefalosporinas. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. .M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 389-395.

TALLY, F. P.; BARG, N. L. Estafilococos: Abscessos e outras doenças. In: SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, C. .N.; EISENSTEIN, B. I.; MEDOFF, G. **Microbiologia: Mecanismos das doenças infecciosas**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 120-127.

TANNER, M. A.; EVERETT, C. L.; YOUVAN, D. C. Molecular Phylogenetic Evidence for Noninvasive Zoonotic Transmission of *Staphylococcus intermedius* from a Canine Pet to a Human. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 38, n. 4, p. 1628-1631, 2000.

TRABULIS, L. R.; TEIXEIRA, L. M.; BUERIS, V. *Staphylococcus aureus*. In: TRABULSI, L. R. & ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 175-182.

VAN DUIJKEREN, E. ; WOLFHAGEN, M. J. H. M.; BOX, A. T. A.; HECK, M. E. O. C.; WANNET, W. J. B.; FLUIT, A. C. Human-to-dog transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 10, n. 12, p. 2235-2237, 2004a.

VAN DUIJKEREN, E.; BOX, A. T.; HECK, M. E.; WANNET, W. J.; FLUIT, A. C. Methicillin-resistant staphylococci isolated from animals. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 103, n. 1-2, p. 91-97, 2004b.

VARALDO, P. E.; KILPPER-BÄLZ, R.; BIAVASCO, F.; SATTA, G.; SCHLEIFFER, K. H. *Staphylococcus delphini* sp. nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins. **International Journal of Systematics Bacteriology**, Washington, v. 38, n. 4, p. 436-439, 1988.

VENGUST, M.; ANDERSON, M. E. C.; ROUSSEAU, J.; WEESE, J. S. Methicillin-resistant staphylococcal colonization in clinically normal dogs and horses in the community. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 43, n. 6, p. 602-606, 2006.

VOSS, A.; LOEFFEN, F.; BAKKER, J.; WULF, M.; KLAASSEN C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 12, p. 1965-1966, 2005.

WEESE, J. S.; DACOSTA, T.; BUTTON, L.; GOTH, K.; ETHIER, M.; BOEHNKE, K. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from the environment in a veterinary teaching hospital. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 18, n. 4, p. 468-470, 2004.

WEESE, J. S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An emerging pathogen in small animals. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 41, n. 3, 150-157, 2005.

WEESE, J. S.; DICK, H.; WILLEY, B. M.; MCGEER, A.; KREISWIRTH, B. N.; INNIS, B.; LOW, D. E. Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 115, n. 1-3, p. 148-155, 2006.

WEESE, J. S.; FAIRES, M.; ROUSSEAU, J.; BERSENAS, A. M.; MATHEWS, K. A. Cluster of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a small animal

intensive care unit. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 231, n. 9, p.1361-1364, 2007.

WERCKENTHIN, C.; CARDOSO, M.; MARTEL, J. L.; SCHWARZ, S. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus* and canine *Staphylococcus intermedius*. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 32, n. 3-4, p. 341-362, 2001.

WULF, M.; VAN NES, A.; EIKELENBOOM-BOSKAMP, A.; DE VRIES, J; MELCHERS, W.; KLAASSEN, C.; VOSS, A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in veterinary doctors and students, the Netherlands. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 12, n. 12, p. 1939-1941, 2006.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)