

## IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE FERIDAS CONTAMINADAS DE PACIENTES ATENDIDOS NO HCV - UFPEL

KARINA AFFELDT GUTERRES<sup>1</sup>; CAROLINE BOHNEN DE MATOS<sup>1</sup>; CLAUDIA GIORDANI<sup>1</sup>; SILVIA REGINA LADEIRA<sup>2</sup>; RENATA COSTA SCHRAMM<sup>2</sup>; MARLETE BRUM CLEFF<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária UFPEL - [guterres.karina@gmail.com](mailto:guterres.karina@gmail.com)

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária UFPEL - [bohnenCarol@gmail.com](mailto:bohnenCarol@gmail.com)

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária UFPEL - [claarte@gmail.com](mailto:claarte@gmail.com)

<sup>2</sup>Laboratório Regional de Diagnóstico UFPEL - [s.ladeira@hotmail.com](mailto:s.ladeira@hotmail.com)

<sup>2</sup>Laboratório Regional de Diagnóstico UFPEL - [schramm.renata@gmail.com](mailto:schramm.renata@gmail.com)

<sup>3</sup>Departamento de Clínicas Veterinária UFPEL - [emebrum@bol.com.br](mailto:emebrum@bol.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

Dentre as afecções clínicas, as feridas destacam-se na clínica veterinária, sendo frequentes e em sua grande maioria decorrentes de mordidas e atropelamentos (ARIAS et al., 2008). Muitas dessas feridas tornam-se contaminadas ou infectadas, não respondendo ao tratamento preconizado (ARIAS et al., 2008). Além disso, a instituição de uma terapia adequada pode ser atrasada quando o antibiótico de primeira escolha não é eficaz, e a escolha deste torna-se mais limitada quanto mais resistente se apresentar a bactéria (SALAZAR, 2011).

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é fonte de preocupação para a medicina humana e veterinária, sendo o uso impróprio e abusivo dos antibióticos uma das principais causas do surgimento e seleção de bactérias resistentes, que vêm se disseminando por todas as regiões do planeta (MEIRELES, 2008).

Devido à crescente problemática do desenvolvimento de multirresistências a antimicrobianos importantes, este trabalho foi desenvolvido na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), com o objetivo de identificar e traçar um perfil de resistência de bactérias isoladas de feridas contaminadas dos animais atendidos na instituição, utilizando-se para isto, alguns dos antibióticos mais comumente administrados na rotina hospitalar.

### 2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado através da coleta de secreções de feridas contaminadas de pacientes da rotina de atendimentos ou internados no Hospital de Clínicas Veterinária da UFPEL, com *swab* estéril. Após, o material foi semeado em placas de Petri com Ágar Sangue e Ágar MacConkey, permanecendo em estufa a 37°C, durante 24 horas, no Laboratório de Bacteriologia - UFPEL. Depois do crescimento das colônias, foram consideradas suas características macromorfológicas, como coloração, presença de hemólise e odor. Para a caracterização microscópica, utilizou-se a técnica de coloração de Gram, avaliando-se a presença de cocos ou bastonetes, assim como a sua coloração. Realizada a caracterização morfológica, foram feitos os antibiogramas em placas contendo Ágar Mueller-Hinton, através da técnica de Kirby-Bauer (1966) para avaliação da suscetibilidade antimicrobiana, sendo a leitura efetuada pela medição dos halos com auxílio de uma régua (mm). Os antibióticos utilizados para o teste de susceptibilidade *in vitro* foram ampicilina, amoxicilina, cefalexina, ceftriaxona, enrofloxacin, neomicina, oxacilina e penicilina G.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isoladas 58 bactérias, sendo das seguintes espécies, canina (n=41), cunícola (n=6), primatas (n=6), felina (n=3), equina (n=2) e bovina (n=2). Destas bactérias, 30 (52%) eram Gram-positivas (G+) e 28 (48%) Gram-negativas (G-). Em relação ao perfil de resistência, os microorganismos isolados apresentaram-se de forma geral, mais resistentes aos antibióticos penicilina G (92%) amoxicilina (78%), ampicilina (76%), oxacilina (72%), com médias de halos de inibição de 13,3mm, 13,6mm, 16,7mm e 10,4mm, respectivamente. Os antibióticos cefalexina, neomicina, enrofloxacina e ceftriaxona mostraram-se mais eficazes no combate às bactérias isoladas, apresentando percentual de resistência de 52%, 36%, 32% e 28% e médias de halos de inibição de 19,2mm, 19,4mm, 25,8mm e 24,7mm, respectivamente. Quando consideradas as características das bactérias, as G- apresentaram maior resistência à penicilina G (96%), oxacilina (96%), ampicilina (93%) e amoxicilina (93%). Isso também ocorreu nos isolados G+, com exceção do antibiótico oxacilina que demonstrou maior ação neste grupo de bactérias e o antibiótico neomicina que demonstrou menor ação quando comparado a ação nos microorganismos G- isolados (Figura 1).

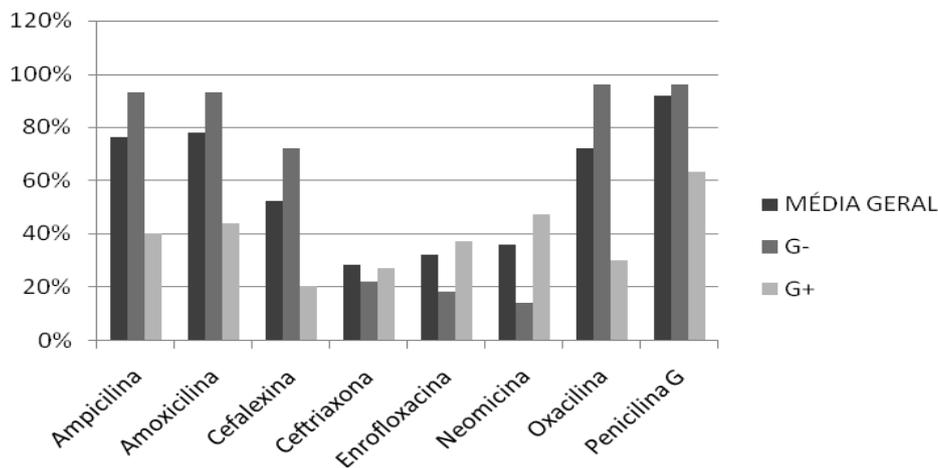


Figura 1. Percentual de resistência das bactérias isoladas de feridas contaminadas de animais frente aos antibióticos testados *in vitro*.

A resistência aos antimicrobianos é inerente às bactérias, tendo sido identificada na medicina humana dois anos após a introdução da penicilina em 1941 (ARIAS et al., 2012). Assim como o uso abusivo de antimicrobianos em seres humanos gera resistência nestes indivíduos, o abuso em animais gera a resistência nas bactérias dos próprios animais (SINGER et al., 2003).

Historicamente, a resistência aos antimicrobianos era determinada pela ausência de resposta clínica à administração do medicamento (MANTESE, 1999). Porém, atualmente métodos laboratoriais podem prever essa resposta, ao testar *in vitro* a sensibilidade da bactéria aos antimicrobianos e ao dosar as concentrações da droga no soro e em outros fluidos do hospedeiro (AGOSTINIS et al., 2012).

Os antibióticos  $\beta$  lactâmicos, atuam nas bactérias através da ligação com proteínas ligadoras de penicilina (PLP), que são enzimas catalisadoras da síntese da parede celular da bactéria (MANTESE, 1999, TAVARES, 2000). A resistência ocorre pela alteração das PLPs, o que resulta em uma diminuição da afinidade dessas enzimas a esses antibióticos (TAVARES, 2000). Neste trabalho,

observou-se grande resistência por parte das bactérias isoladas frente à penicilina G, corroborando com FREITAS et al. (2013), que relatou 65% de resistência dos isolados de ouvidos de cães nos testes de susceptibilidade. GEORGIEVA (2012), também cita maior percentual de resistência de isolados de pele de caninos, frente à ampicilina e penicilina.

Neste estudo, a oxacilina apresentou significativa inibição dos microorganismos G+, discordando desta forma de FREITAS et al. (2013), que cita a oxacilina como o antibiótico de eleição para o tratamento de infecções cutâneas em humanos causadas por estafilococos, porém que vem apresentando menor eficácia terapêutica contra bactérias G+.

Com relação às bactérias G-, o aminoglicosídeo neomicina, apresentou grande eficácia, sendo pouco ativo nas G+. Estes resultados já eram esperados, pois se sabe que os aminoglicosídeos são antibióticos que atuam na inibição da síntese protéica, indicados principalmente no tratamento de infecções causadas por bactérias G-, apresentando boa eficácia contra estes microorganismos (LOURENÇO, 2012).

Dentre os antibióticos testados, aquele que apresentou boa eficácia tanto nos isolados G+ como G- foi a enrofloxacin. As fluoroquinolonas possuem grande utilização na medicina veterinária, sendo comumente usadas como terapêutica inicial em casos de piodermites, por possuírem ação contra microorganismos G -, G+, com as últimas gerações atuando em bactérias anaeróbias, sendo a sua ação fundamental, sobretudo em infecções causadas por microorganismos resistentes a outras classes de fármacos (VIEIRA, 2012; SOUZA & VASCONCELOS, 2005). A principal representante deste grupo é a enrofloxacin com uso exclusivo em medicina veterinária (SILVA & HOLLENBACH, 2010). As fluoroquinolonas atuam por inibição da atividade catalítica de duas enzimas responsáveis e essenciais à replicação e transcrição do DNA bacteriano: a DNA girase e a topoisomerase IV (SCHOLAR, 2002; SOUZA & VASCONCELOS, 2005). Os mecanismos de resistência frente às quinolonas ocorrem por alterações nas moléculas alvo: as enzimas DNA girase e topoisomerase IV e alterações da acumulação intracelular dos antibióticos (SILVA & HOLLENBACH, 2010). Ao contrário das quinolonas de primeira geração, a administração clínica das fluoroquinolonas produz mutantes resistentes numa frequência ainda bastante pequena (SILVA & HOLLENBACH, 2010), o que pode ser observado nos resultados obtidos deste trabalho, no entanto, POMBA-FÉRIA et al. (2002) cita a comprovação significativa de resistência da enrofloxacin para tratamento de *Pseudomonas* sp. em gatos.

#### 4. CONCLUSÕES

A partir deste estudo observou-se um elevado número de bactérias isoladas de feridas contaminadas resistentes aos antibióticos utilizados na rotina hospitalar. Para o uso apropriado dos antibióticos, torna-se de extrema importância os testes prévios de sensibilidade para a escolha correta, além da importância de manter o tratamento por tempo adequado e com as doses apropriadas, diminuindo, desta forma, a seleção de bactérias resistentes.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINIS, R. O.; MELO, P. L.; MARTINS, L. A. Importância do mapeamento e monitoramento do perfil de resistência e detecção dos genes de resistência de *Staphylococcus* sp. relacionados à mastite bovina. **Arquivo Ciência Veterinária e Zoologia UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 57-65, jan./jun. 2012.

- ARIAS, M. V. B.; BATTAGLIA, L. A.; AIELLO, G.; CARVALHO, T. T.; FREITAS, J. C. Identificação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de cães e gatos com feridas traumáticas contaminadas e infectadas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 861-874, out./dez. 2008.
- ARIAS, M. V. B.; CARRILHO, C. M. D. M. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 775-790, abr. 2012.
- BAUER, A. W., W. M. M. KIRBY, J. C. SHERRIS, AND M. TURCK. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 36, p.493-496, 1966.
- FREITAS, A. B.; PEREIRA, J. Q.; TEIXEIRA, D. R.; MOURA, M. A. *Staphylococcus Aureus* resistentes em animais de companhia. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 16, n. 16, p. 95 – 101, 2013.
- GEORGIVA, R. N. **Produção de biofilme em *Staphylococci* isolados da pele de canídeos**. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. 2012, Lisboa, 101p.
- LOURENÇO, F. R. **Desenvolvimento de métodos alternativos rápidos para determinação da potência de aminoglicosídeos**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil, 2012.
- MANTESE, O. C. Pneumococo resistente à penicilina: implicações práticas. **Jornal de Pediatria**, v. 75, 1999.
- MEIRELES, M. A. O. M. **Uso de antimicrobianos e resistência bacteriana: aspectos socioeconômicos e comportamentais e seu impacto clínico e ecológico**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 2008. Monografia apresentada ao Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de especialista em Microbiologia. 47p.
- SALAZAR, A. S. L. M. O. **Estudo da resistência às cefalosporinas de terceira geração de isolados de *Escherichia coli* de origem canina**. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, 2011. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. 81p.
- SCHOLAR, E. M. Fluoroquinolones: Past, present and future of a novel group of antibacterial agents. **American Journal of Pharmaceutical Education**, v. 66, p.164-172, 2002.
- SILVA, J.M.B.; HOLLENBACH, C.B. Fluoroquinolonas x resistência bacteriana na Medicina Veterinária. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.77, n.2, p.363-369, abr./jun., 2010.
- SINGER, R. S.; FINCH, R.; WEGENER, H. C.; BYWATER, R.; WALTERS, J.; LIPSITICH, M. Antibiotic resistance – the interplay between antibiotic use in animals and human beings. **Lancet Infectious Diseases**, New York, v. 3, n. 1, p. 47-51, 2003.
- SOUZA, M. V. N.; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Química Nova**. v.28, n.4, 2005.
- POMBA-FÉRIA, C.; COSTA, M.; CANIÇA, M.; CORREIA, J. D. **In vitro activity of enrofloxacin, marbofloxacin and ciprofloxacin against clinical strains of *Pseudomonas* spp. isolated from small animals on Portugal**. In: world small animal veterinary association, Irland. *Proceedings*. Dublin, 2002.
- TAVARES. W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.33, n.3, p.281-301, 2000.
- VIEIRA, J. M. C. **Tratamento da piодermite recidivante em cães e gatos causada por microorganismos resistentes**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária. Porto Alegre, 2012. Trabalho de conclusão de curso apresentado ao programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Médica Veterinária. 44p.