

IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE FERIDAS CONTAMINADAS DE ANIMAIS ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

KÁSSIA RATSLAFF¹; KARINA AFFELDT GUTERRES²; CLAUDIA GIORDANI³; SÍLVIA REGINA LEAL LADEIRA⁴; MARLETE BRUM CLEFF⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – UFPel – kassiaratslaff@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – UFPel – guterres.karina@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – UFPel – claarte@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – s.ladeira@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – UFPel – emebrum@bol.com.br

1. INTRODUÇÃO

A ocorrência de feridas contaminadas nos animais, causadas pelas mais diversas causas, são buscas frequentes ao atendimento clínico na rotina veterinária, e muitas vezes faz-se necessário o emprego de antibióticos para o tratamento das mesmas (ARIAS et al., 2008).

Os antibióticos são amplamente utilizados, tanto na medicina humana, quanto veterinária, e servem como importantes armas no combate de enfermidades infecciosas (MOTA et al., 2005). No entanto, o aparecimento de resistência às drogas antimicrobianas tem sido um grande problema no ponto de vista clínico e de saúde pública, e se deve, principalmente, ao uso indiscriminado destas drogas (MOTA et al., 2005). A identificação das bactérias envolvidas nas infecções e os testes de suscetibilidade destes microrganismos são importantes mecanismos no combate à resistência antimicrobiana, no entanto, muitas vezes essas medidas não são realizadas, colaborando ao aparecimento da resistência a essas drogas, além de prolongar o tempo de tratamento com as mesmas. (GUARDABASSI et al., 2008).

O objetivo do presente trabalho foi traçar um perfil das bactérias resistentes aos principais antibióticos utilizados no tratamento de feridas contaminadas, provenientes de casos clínicos do Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas.

2. METODOLOGIA

Para a realização do estudo foi feita a coleta de material, com *swab* estéril, de feridas contaminadas de 39 pacientes, provenientes de casos clínicos e do Hospital Veterinário (HCV-UFPel), sendo 27 amostras de caninos (64%), 4 de coelhos (10%), 4 de primatas (10%), 3 de felinos (7%), 1 de equino (2%). Também foram utilizadas duas amostras de bactérias ATCC, sendo uma de *Staphylococcus aureus*, e uma de *Pseudomonas aeruginosa*, que estavam estocadas no laboratório de Bacteriologia da UFPel. Todas as amostras foram semeadas em placa de Petri com Ágar sangue e Ágar MacConkey e permaneceram por 24 horas na estufa à 37°C. Após o crescimento das colônias, foi feita a identificação das mesmas, com a observação das características macromorfológicas, como coloração, odor e presença de hemólise, e microscópicas, com avaliação de cocos ou bastonetes e sua coloração, através da técnica de coloração de Gram. Para identificação das espécies foram feitas provas bioquímicas e método Vitek. Posteriormente, utilizando-se a técnica de Kirby-Bauer (1966), realizou-se o antibiograma, em placas contendo Ágar Mueller-Hinton, para a avaliação da suscetibilidade microbiana, a qual foi feita através da leitura dos halos de inibição, medidos em milímetros, com auxílio de uma régua. Os antibióticos testados para a avaliação da suscetibilidade *in vitro* foram:

Ampicilina, Amoxicilina, Cefalexina, Ceftriaxona, Enrofloxacin, Neomicina, Oxacilina e Penicilina G.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 39 amostras provenientes de feridas contaminadas, foram isoladas 21 bactérias de 6 gêneros de bactérias Gram-negativas (G-), das seguintes espécies: *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia* sp, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* e *Klebsiella pseudomoniae*; e 18 isolados de 3 gêneros de bactérias Gram-positivas (G+), das espécies: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hominis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus pleuanimalium* e *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*. *Staphylococcus* sp foi o gênero de maior prevalência, correspondendo a 33 % dos isolados; seguido por *Pseudomonas* sp e *Escherichia coli* que corresponderam a 18% dos isolados, cada um.

Quanto ao perfil de resistência, dentre G+ e G-, as G-, em geral, apresentaram maior resistência, com 65% dos isolados resistentes a pelo menos um dos antibióticos testados, comparado a 51% de resistência das G+. Os gêneros que apresentaram maior resistência foram: *Enterococcus* sp, *Pseudomonas* sp e *Proteus* sp, com 79%, 75% e 72% de resistência, respectivamente.

A ATCC de *Pseudomonas aeruginosa* testada, apresentou sensibilidade a todos antibióticos testados, com exceção da Oxacilina e Penicilina G, aos quais apresentou resistência, com halo de 11mm frente à Penicilina G e frente à Oxacilina não apresentou halo. Diferentemente, os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas das feridas, apresentaram resistência de 100% à Ampicilina, Amoxicilina, Cefalexina, Oxacilina e Penicilina G e 0% de resistência à Enrofloxacin, 34% à Neomicina e 50% à Ceftriaxona.

A ATCC de *Staphylococcus aureus* foi sensível a todos os antibióticos testados, já os isolados dessa bactéria proveniente das feridas, apresentaram resistência de 86% à Ampicilina e Amoxicilina; 29% à Cefalexina, Ceftriaxona, Neomicina e Oxacilina; 14% à Enrofloxacin e 71% à Penicilina G.

As bactérias mais isoladas neste estudo foram dos gêneros *Staphylococcus* sp (33%), *Pseudomonas* sp (18%) e *Escherichia coli* (18%), corroborando com ISHII et al. (2011) que encontraram a mesma predominância de *Staphylococcus* sp e *Pseudomonas* sp. Já ARIAS et al. (2008) citam *Pseudomonas* sp e *Proteus* sp como sendo os principais microrganismos isolados de feridas de animais domésticos.

Quanto aos antibióticos testados, destacaram-se Penicilina G, Ampicilina, Amoxicilina e Oxacilina, por apresentarem menor desempenho frente aos microrganismos isolados (Tabela 1). Estes apresentaram resistência de 82%, 79%, 79% e 72%, respectivamente. A maior resistência das G- e também das G+ foi frente à Penicilina G (Tabela 1), o que é preocupante, pois as penicilinas constituem um dos grupos mais importantes dos antibióticos e são amplamente utilizadas, principalmente, no combate de infecções causadas por G+, devido à penetração que os antibióticos beta-lactâmicos conseguem fazer na cápsula polissacarídea, presente nessas bactérias (BRUNTON et al., 2011). A estrutura externa das G- é um pouco diferenciada, o que dificulta a penetração dos beta-lactâmicos, no entanto, as penicilinas consideradas de amplo espectro (Ampicilina e Amoxicilina) e a maioria das cefalosporinas, são capazes de difundir-se pelos poros da membrana externa de algumas G- (*Escherichia coli*) com rapidez significativamente maior que a Penicilina G (BRUNTON et al., 2011). O mecanismo de resistência da Penicilina está relacionado a modificações nas

proteínas ligadoras de penicilina; redução da penetração e/ou efluxo do antibiótico; e também à produção de beta-lactamases, que destroem o antibiótico (BRUNTON et al., 2011).

Tabela 1: Porcentagem de resistência das bactérias G+, G- e total, frente aos antibióticos testados no estudo.

Antibióticos	Resistência G+ (%)	Resistência G- (%)	Resistência total (%)
Ampicilina	61	95	79
Amoxicilina	61	95	79
Cefalexina	33	76	56
Ceftriaxona	39	33	36
Enrofloxacina	44	14	28
Neomicina	56	19	36
Oxacilina	44	95	72
Penicilina G	64	95	82

ARIAS et al. (2008), obtiveram resultados semelhantes ao presente estudo, quanto a resistência dos antibióticos testados, no qual a Ampicilina apresentou resistência de, aproximadamente, 80% frente aos microrganismos isolados de feridas contaminadas; ISHII et al. (2011) observaram maior resistência às bactérias isoladas de feridas, frente à Cefalexina. Já, no presente estudo, a Cefalexina obteve resistência intermediária (56%) frente aos microrganismos isolados.

As cefalosporinas são consideradas de amplo espectro (AUTO et al., 2008), e seu mecanismo de ação, assim como o das Penicilinas, é inibir a síntese da parede celular bacteriana (BRUNTON, et al., 2011). O grupo da primeira geração das cefalosporinas, a qual a Cefalexina pertence, a princípio, mostrava-se ativo contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, mas com o tempo, esse grupo perdeu sua atividade contra algumas bactérias gram-negativas como *Klebsiella* e *Proteus*, que passaram a produzir beta-lactamases, que são enzimas bacterianas que hidrolisam penicilinas e cefalosporinas, causando sua inativação (TAVARES, 2001). Frente às bactérias G+ testadas no presente estudo, a Cefalexina foi o antibiótico de maior eficiência, apresentando sensibilidade de 67%.

O antibiótico que apresentou maior suscetibilidade frente às G- foi a Enrofloxacina, a qual age sobre o processo de duplicação do material genético bacteriano (AUTO et al., 2008), atuando tanto na DNA-girase, quanto na topoisomerase IV, agindo, desta forma sobre microrganismos Gram positivos e Gram negativos.

As bactérias Gram negativas são historicamente consideradas sensíveis às fluorquinolonas, mas casos de resistência a essa classe de antibióticos vem ocorrendo devido a mutações e, atualmente, é também mediada por plasmídeos, o que se acreditava não ocorrer nesta classe de antibióticos (ISHII et al., 2011).

A resistência aos antibióticos em animais de companhia se elevou ao longo dos anos, e esse aumento veio acompanhado da utilização mais frequente dessas drogas no tratamento de infecções (ISHII et al., 2011), o que se pôde comprovar neste estudo, através do comparativo entre as amostras ATCC de *S. aureus*, a qual foi sensível a todos os antibióticos testados e *P. aeruginosa*, que apresentou resistência apenas à Oxacilina e à Penicilina G, diferentemente dos isolados dessas bactérias obtidos das feridas, onde *S. aureus* apresentou algum

grau de resistência a todos os antibióticos testados, e a *P. aeruginosa*, que foi 100% sensível apenas à Enrofloxacin. Além disso, cada vez mais os pacientes são tratados com antibióticos de amplo espectro, já que a identificação bacteriana e a suscetibilidade antimicrobiana muitas vezes não são realizadas (ISHII et al., 2011), o que é preocupante, pois o número de novas bactérias resistentes e patogênicas, tanto para animais quanto para humanos, cresce mais rápido do que a capacidade dos laboratórios e indústrias produzirem novas drogas (MOTA et al., 2005).

4. CONCLUSÕES

Verificou-se, a partir desse estudo, a elevada resistência dos microrganismos isolados em feridas contaminadas, frente aos antibióticos mais utilizados na rotina clínica. Fica claro, portanto, a importância da realização do antibiograma antes da instituição da terapia, bem como o uso cauteloso e correto das drogas antimicrobianas, a fim de diminuir a seleção de bactérias resistentes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

AUTO, H.F.; CONSTANT, J.M.C.; CONSTANT, A.B.L. **Antibióticos e Quimioterápicos**, 5ª edição. EDUFAL; 2008.

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.

BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; BJÖRN, C.K.; **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman**, 12ª edição. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda; 2011.

GUARDABASSI, L.; HOUSER, G. A.; FRANK, L. A.; PAPICH, M.G. 2008. Orientações para o uso de antimicrobianos em cães e gatos, p.224-249. In: Guardabassi L., Jesen L.B. & Kruse H. (Eds), Guia de Antimicrobianos em Veterinária. Artmed, Porto Alegre.

ISHII, J.B.; FREITAS, J.C.; ARIAS, M.V.B. Resistência de bactérias isoladas de cães e gatos do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (2008-2009). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Londrina, v.31, n.6, p.533-537, 2011.

MOTA, R.A.; SILVA, K.P.C.; FREITAS, M.F.L.; PORTO, W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.42, n.6, p.465-470, 2005.

TAVARES W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2001.