

## SIMILARIDADE FENOTÍPICA ENTRE ISOLADOS MULTIRRESISTENTES HUMANOS E ANIMAIS: DADOS PRELIMINARES

LUCAS SCHAEFER BATISTA<sup>1</sup>; MARIA GABRIELA CUSTÓDIO KOBAYASHI<sup>2</sup>;  
RITA DE CÁSSIA DOS SANTOS DA CONCEIÇÃO<sup>3</sup>; MARISA CASTRO JARA<sup>4</sup>;  
HELENICE GONZALEZ DE LIMA<sup>5</sup>; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – lbatistasul@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – mariagabriela.mgk@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – ritinhaconceicao@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – marisajara@terra.com.br

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – helenicegonzalez@hotmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – pattsn@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A resistência dos microrganismos aos fármacos antimicrobianos é definida geneticamente, tanto em genes cromossômicos, quanto em genes localizados em plasmídeos bacterianos. Conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que segue o conceito da Organização Mundial de Saúde (OMS), são considerados multirresistentes aqueles isolados que sejam resistentes a três fármacos de classes distintas de antimicrobianos.

A multirresistência é uma preocupação crescente para saúde pública, pois acaba por limitar as alternativas terapêuticas frente a infecções graves. Conforme Nobel, *et al* (2022), o uso de antibióticos na produção pecuária acaba por selecionar microrganismos resistentes. Ao mesmo tempo SANTOS & FONSECA, (2019) apontam como origem de agentes etiológicos de mastites contagiosas, como *Staphylococcus aureus* o próprio ser humano, através da mão do ordenhador.

O objetivo desse trabalho é apresentar resultados preliminares quanto ao perfil de susceptibilidade de *Staphylococcus aureus* isolados em humanos, e em animais na região sul do Rio Grande do Sul. Esses resultados fazem parte de um estudo genotípico, que buscará verificar os genes que estão relacionados com a resistência antimicrobiana em mastites e pessoas que ainda encontra-se em andamento.

### 2. METODOLOGIA

Foram recuperados 289 isolados de mastite de animais da região sul do Rio Grande do Sul, sem identificação de espécie, que encontravam-se estocados no Laboratório de Inspeção de Origem Animal (LIPOA) da Faculdade de Veterinária (FV) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Desses seis foram caracterizados bioquimicamente como *Staphylococcus aureus*.

Foram recuperados sete isolados humanos, já identificados como *S. aureus*, que encontravam-se estocados no Instituto de Biologia (IB) da UFPEL. Eles são provenientes de hospitais da cidade de Pelotas/RS, e foram caracterizados como multirresistentes.

Para recuperação dos isolados realizou-se o descongelamento lento, e incubou-se uma alíquota de 10ml do isolado em 3ml de caldo Infusão Cérebro-Coração (BHI), Oxoid®. Incubou-se a 37°C por 24-48h. Após a constatação do aumento da densidade óptica no tubo, realizou-se a padronização

da identificação dos isolados. Aplicou-se a mesma técnica, e mesmos critérios, que fora aplicada aos isolados de mastite.

Após a recuperação, semeou-se por esgotamento uma alíquota de 10mcg do microrganismo em placas contendo Ágar Sangue, Acumedia®. Incubou-se as placas à 37°C por 48h, a fim de obterem-se colônias isoladas. Ao final da incubação, avaliou-se macroscopicamente as colônias, bem como a hemólise obtida no meio.

Foi realizada a avaliação bioquímica para isolados de mastite conforme SANTOS *et al* (2019). Realizaram-se esfregaços das colônias, e microscopia óptica através da coloração de Gram. Selecionando-se cocos Gram-positivos, e descartaram-se os demais isolados. Aplicaram-se as provas bioquímicas de catalase, coagulase, cultura em ágar sal-manitol, Acumedia® e teste de Voges-Proskauer a fim de identificar as cepas de *S. aureus*.

Foram realizados antibiogramas nos isolados de *S. aureus* de mastite. Os isolados de *S. aureus* humanos já possuíam o perfil de sensibilidade e resistência conhecido.

Os antibiogramas foram realizados pela técnica de discos de difusão, conforme as instruções do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility test* (BrCast). A partir dos resultados obtidos pela mensuração dos halos de inibição os isolados foram classificados como sensíveis, ou resistentes aos antimicrobianos. Para definição utilizaram-se tabelas do próprio CLSI e BrCast.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil de sensibilidade dos *Staphylococcus aureus* isolados em mastites encontram-se na tabela 1. Os dados dos isolados humanos estão na tabela 2.

Tabela 1: Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus aureus* envolvidos em mastites, em rebanhos da região sul do Rio Grande do Sul.

Antimicrobiano	Número de Isolados Sensíveis	Proporção de Isolados Sensíveis	Número de Isolados Resistentes	Proporção de Isolados Resistentes
Penicilina G	3	50%	3	50%
Oxacilina	4	67%	2	33%
Ampicilina	6	100%	0	-
Amoxicilina com Clavulanato	6	100%	0	-
Ampicilina com Sulbactam	6	100%	0	-
Piperacilina com Trazobactam	6	100%	0	-
Cefalexina	3	50%	3	50%
Cefalotina	4	67%	2	33%
Cefazolina	5	83%	1	17%
Cefuroxima	3	50%	3	50%
Cefoxitina	4	67%	2	33%
Ceftriaxona	5	83%	1	17%
Cefotaxima	4	67%	2	33%
Ceftiofur	5	83%	1	17%
Cefepime	4	67%	2	33%
Imipeném	6	100%	0	-
Meropeném	5	83%	1	17%
Ertapeném	4	67%	2	33%
Vancomicina	6	100%	0	-

Amicacina	4	67%	2	33%
Gentamicina	5	83%	1	17%
Neomicina	3	50%	3	50%
Azitromicina	3	50%	3	50%
Eritromicina	3	50%	3	50%
Clindamicina	3	50%	3	50%
Doxiciclina	6	100%	0	-
Tetraciclina	4	67%	2	33%
Minociclina	6	100%	0	-
Linezolida	6	100%	0	-
Cloranfenicol	5	83%	1	17%
Rifampicina	6	100%	0	-
Ciprofloxacino	5	83%	1	17%
Enrofloxacino	6	100%	0	-
Moxifloxacino	6	100%	0	-
Levofloxacino	6	100%	0	-
Cotrimazol	6	100%	0	-
Sulfonamidas	2	33%	4	67%
Trimetroprima	6	100%	0	-

Tabela 2: Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de isolados humanos de *Staphylococcus aureus*

Antimicrobiano	Isolados – Sensibilidade/Resistência						
	StA3	StA5	StA7	StA8	StA9	StA12	StA15
Penicilina G	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	-	Resistente	Resistente
Oxacilina	Resistente	Sensível	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Ampicilina	Resistente	Resistente	-	-	-	-	-
Cefoxitina	-	-	-	-	Resistente	-	-
Vancomicina	Resistente	Sensível	-	-	Sensível	Sensível	Sensível
Gentamicina	Resistente	Sensível	-	-	Sensível	Sensível	Sensível
Eritromicina	-	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Clindamicina	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	-	Resistente	Resistente
Minociclina	-	-	Sensível	Sensível	-	-	-
Linezolida	-	Sensível	Resistente	Sensível	-	Sensível	Sensível
Rifampicina	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Resistente	Resistente
Ciprofloxacino	Resistente	-	-	-	-	-	-
Levofloxacino	Resistente	-	-	-	Resistente	Resistente	Resistente
Cotrimazol	Resistente	Sensível	Sensível	Sensível	Resistente	Sensível	Sensível

Comparando-se os dois bancos de isolados, verifica-se que a Penicilina G, bem como a Eritromicina e Clindamicina apresentaram 100% de resistência entre os microrganismos isolados em humanos, e 50% entre os isolados em animais. Nos isolados humanos, por se tratar de dados que já vieram tabulados dos hospitais, a seleção dos antibióticos notavelmente busca atender o interesse clínico, e foi realizada conforme o CLSI. O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos geral da região, feito por JARA *et al* (2021), que utilizou um número maior de pacientes, além desses isolados, e concluiu que a resistência às penicilinas na região é de 74,5%, enquanto aos macrolídeos e lincosamidas é 95,4% e 90,3%, respectivamente.

Na sequência do estudo, ainda é necessária a ampliação do número de antibióticos testados para os isolados humanos, especialmente aqueles cujo uso clínico é restrito à Medicina Veterinária, como Ceftiofur, por exemplo, a fim de que haja uma padronização mais adequada, que aprimore a comparação. Nos isolados animais, por exemplo, as sulfamidas, foram as que tiveram maior resistência, e não foram testadas nos isolados humanos. Também é necessário que o número de isolados de animais seja numericamente representativo para a

população da região, da mesma maneira que o estudo de JARA *et al* (2021) foi numericamente representativo para os isolados humanos.

#### 4. CONCLUSÕES

Os dados levantados a partir dos bancos de isolados ainda não permitem fazer conclusões definitivas quanto a similaridade fenotípica entre os isolados humanos e animais. Entretanto, demonstram a existência de *S. aureus* multirresistente acometendo pessoas e animais, demonstrando a importância na continuidade do estudo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, Microbiologia Clínica para o Controle e Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília: Anvisa, 2020.

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING, Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. **BrCAST**, 2024.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30<sup>a</sup> edição. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.

JARA, M. C.; FREDIANI, A. V.; ZEHETMEYR, F. K.; BRUHN, F. R. P.; MÜLLER, M. R.; MILLER, R. G.; NASCENTE, P. S.; Multidrug-resistant hospital bacteria: Epidemiological factors and susceptibility profile. **Microbial Drug Resistance**, v.27, n.3; p.433-440; 2021;

NOBEL, F. A.; ISLAM, S.; BABU, G.; AKTER, S.; JEBIN, R. A.; SARKER, T. C.; ISLAM, A.; ISLAM, M. J.; Isolation of multidrug resistance bacteria from the patients with wound infection and their antibiotics susceptibility patterns: A cross-sectional study. In: **Annals of Medicine Surgery**, Londres. 2022; doi: 10.1016/j.amsu.2022.104895.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L.; **Controle de mastite e qualidade do leite – Desafios e soluções**. Pirassununga/SP: Edição dos Autores, 2019.