

SENSIBILIDADE DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *STAPHYLOCOCCUS SP.* MULTIRRESISTENTES FRENTE A EXTRATOS VEGETAIS

DANIELA LEHMEN¹; KARINA GUTERRES ²; CLAUDIA GIORDANI³; CRISTINE
SILVA⁴; CAROLINE MATOS⁵; MARLETE CLEFF⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – danielalehmen@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – guteres.karina@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – claarte@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – criscioato@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – bohnencarol@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – marletecleff@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O surgimento dos antibióticos foi um grande avanço tanto para a medicina humana quanto veterinária (ASCHBACHER, 1978). Desde então, os antimicrobianos são utilizados frequentemente como primeira opção para o tratamento de diversas enfermidades (LANGNEGGER, 1986). Sendo importante a avaliação da eficácia desses medicamentos frente aos microorganismos causadores das infecções, através da utilização de antibiograma (MACKIE, 1988). Apesar das indústrias farmacêuticas pesquisarem e produzirem novos antibióticos, a resistência microbiana a essas drogas também vem aumentando (NASCIMENTO et al., 2000).

As bactérias possuem habilidade genética de adquirir e de transmitir a resistência aos fármacos utilizados (COHEN, 1992). Neste cenário, destacam-se alguns gêneros bacterianos, como o *Staphylococcus sp.*, principal causador de infecções dermatológicas na clínica de pequenos animais (CARLOTTI et al., 1995) e que vem produzindo diversos mecanismos de resistência (BLATT; PIAZZA, 2004). Sendo assim, torna-se necessário que medidas sejam tomadas, como pesquisas acerca do mecanismo de resistência e acerca de novas moléculas sintéticas e naturais são necessárias (NASCIMENTO et al., 2000).

Nesse contexto, os extratos vegetais vêm ganhando espaço no cotidiano veterinário (CLEFF et al., 2010). Desta forma, o presente estudo teve como objetivos isolar e traçar o perfil de resistência de *Staphylococcus sp.* provenientes de lesões cutâneas de cães e avaliar a sensibilidade dos isolados frente a óleos essenciais da família Lamiaceae.

2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado utilizando 33 isolados clínicos de *Staphylococcus sp.* oriundos de lesões cutâneas ulceradas de cães, atendidos no Hospital de Clínicas Veterinária – UFPEL. Todos os isolados foram avaliados quanto à resistência através de antibiograma.

As plantas da família Lamiaceae (*Origanum majorana* – manjerona; *Origanum vulgare* – orégano e *Rosmarinus officinalis* - alecrim) utilizadas, foram obtidas de distribuidores comerciais, com certificação de origem e qualidade. O extrato utilizado foi o óleo essencial, sendo obtido através da submissão das folhas secas à extração com arraste de vapor em aparelho Clevenger, segundo a Farmacopéia Brasileira IV. O teste de susceptibilidade dos isolados bacterianos, frente aos óleos foi realizado de acordo com o documento CLSI M7-A8 (2009), utilizando-se a técnica de microdiluição em caldo, com modificação para

fitofármacos, sendo os extratos testados nas concentrações de 250 a 0,4882 µg/mL. A susceptibilidade das bactérias aos extratos foi determinada através da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM), sendo a CIM obtida através de observação visual do crescimento das colônias ou turvação do meio e, para determinação da CBM foram semeados 10 µL das suspensões das microplacas em ágar BHI e incubadas a 37°C por 24 h.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pacientes caninos incluídos no estudo apresentavam lesões cutâneas ulceradas, sendo os isolados classificados quanto ao gênero em *Staphylococcus* sp.. Atendimento dermatológico decorrentes de lesões cutâneas representam grande parte dos casos clínicos de animais de companhia (ARIAS et al., 2008). De acordo com MENDES (2008), o gênero bacteriano *Staphylococcus* é integrante da microbiota residente de animais, e vem sendo freqüentemente descrito como causador de piodermite secundária, quando há alguma lesão cutânea o que favorece a multiplicação bacteriana (PENA, 2009; CONTE, 2008).

Os 33 isolados de *Staphylococcus* sp. apresentaram resistência frente a ampicilina (36%), amoxicilina (45%), enrofloxacin (13%), neomicina (22%), oxacilina (27%), penicilina G (59%), cefalexina (18%) e ceftriaxona (18%).

É importante notar o alto potencial de resistência das bactérias frente à ampicilina e amoxicilina, o que possivelmente pode ser justificado pela ampla utilização desses medicamentos na veterinária, o que também foi observado por CRUZ et al. (2012), que citou o aumento de resistência frente a estes fármacos em decorrência da grande utilização e muitas vezes o uso de maneira inadequada.

Os resultados apontam para um elevado percentual de resistência à Penicilina G. TENSSAY (2000) analisaram 432 *Staphylococcus* coagulase negativos e encontraram 95% de resistência à penicilina, similar a BARELLI et al. (1999), que encontraram 88,6% de resistência à penicilina em *S. epidermidis*.

A enrofloxacin foi o fármaco com menor índice de resistência, dentre os testados. As fluorquinolonas são fármacos de escolha para as dermatites que afetam cães devido a baixa resistência (MAY, 2006). Cefalexina e ceftriaxona também obtiveram baixo índice de resistência, o que está de acordo com CRUZ et al. (2012), que obteve 9,52% de resistência para *Staphylococcus* de cães a estes antimicrobianos. Destaca-se o baixo índice de resistência à neomicina, visto que ela pode ser associada a outros antimicrobianos visando aumentar o espectro de ação (SPINOSA, 1996), podendo ser importante a utilização em piodermites.

Quanto a oxacilina, houve 27% de resistência, o que é importante já que esta é a droga de escolha para infecções por *Staphylococcus* no homem, assim como há possibilidade da transmissão zoonótica destes isolados. WEESE et al. (2006), relatou a transmissão de *Staphylococcus* de animais de estimação para o homem. Sendo assim, é indicado que se faça o monitoramento dos isolados resistentes a oxacilina também na medicina veterinária (OLIVEIRA et al., 2005).

A resistência às drogas está relacionada, principalmente com o uso excessivo e às aplicações sub-terapêuticas de antimicrobianos (MENG et al., 1998).

Em relação aos óleos testados, os extratos das três plantas da família Lamiaceae, causaram inibição dos isolados bacterianos. Dentre os extratos, o óleo essencial de *O. vulgare* teve a CIM variando de 1,9 µg/mL a 31,2 µg/mL e CBM variando de 3,9 µg/mL a 125 µg/mL. Sendo que o óleo de *R. officinalis* teve a CIM e CBM variando de 0,4 µg/mL a 250 µg/mL. O óleo de *O. majorana* teve

CIM variando de 0,4 µg/mL a 62,5 µg/mL e CBM variando de 0,4 µg/mL a 125 µg/mL.

A capacidade antibacteriana da família Lamiaceae está atribuída aos compostos químicos presentes nos óleos essenciais, que aumentam a permeabilidade da membrana citoplasmática podendo causar destruição estrutural da membrana das bactérias (ULTEE; SMID, 2001). Em relação ao óleo essencial de orégano, POZZO (2011) cita a atividade do mesmo frente a *Staphylococcus sp.*, provenientes de animais, em que a CIM variou entre 800-3200 µg/mL e a CBM de 1600-6400 µg/mL, sendo estes valores muito superiores aos encontrados em nosso estudo.

LIMA et al. (2013) citam que o óleo essencial de *R. officinalis* (10 µL/mL), frente a 18 isolados de *S. intermedius* de cães, que a CBM foi de 2,5 µL/mL e CIM de 2,5 µL/mL, sendo estas concentrações superiores às encontradas em nosso estudo. HUSSAIN et al. (2010), avaliaram as atividades antiproliferativa, antioxidante e antibacteriana do óleo essencial de *R. officinalis*, sendo que este apresentou CIM menor frente à *S. aureus* (0,3 µg/mL), o que está de acordo com este trabalho, que teve CIM variando de 0,4 µg/mL a 250 µg/mL. SILVA (2011) avaliou isolados de *S. aureus*, utilizando óleo essencial de *O. majorana*, com resultados de CIM de 5 a 10 µL/mL, não havendo atividade bactericida (CBM), diferentemente do presente estudo onde a CBM variou de 0,4 µg/mL a 125 µg/mL com este óleo.

4. CONCLUSÕES

Foi possível observar que os óleos da família Lamiaceae obtiveram resultados satisfatórios frente aos isolados de *Staphylococcus sp.*. Sendo assim, estes óleos se apresentam como alternativas promissoras no tratamento dessas infecções, necessitando de mais estudos in vitro e posteriormente in vivo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARIAS, M. V. B. et al. **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;
- ASCHBACHER, P. W.; **Distribution and fate of growth-promoting drugs**. In: HATHCOCK, J. N.; COON, J. (Ed.). Nutrition and drugs interrelations. New York: Academic Press, 1978;
- BARELLI, C. et al. Evaluation of the antimicrobial susceptibilities of coagulase-negative *staphylococci* by E test. **Revista Latinoamericana Microbiologia**, v.41, n.2, p.67- 72, 1999;
- BLATT, M.J.; PIAZZA, E.C. Perfil de sensibilidade de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* negativo isolado em pacientes internados. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. 2004: (36)129-31;
- CARLOTTI, D.N.; JASMIN. P.; GUAGUÈRE. E. et al.. Utilisation de la marbofloxacin dans le traitement des pyodermites du chien.. **Pratique Medicale & Chirurgicale de L'animal De Compagnie**, Paris, v.30, p.281-293,1995;
- CLEFF, M.B.; MEINERZ, A.R.M.; XAVIER, M.O. et al. **In vitro activity of *Origanum vulgare* essential oil against candida species**. Braz. J. Microbiol., v.41, p.116-123, 2010;
- COHEN, M.L. **Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era**. Science, Washington, v.257, n.11, p.1050-1055, 1992;

- CONTE, AnaPaula. **Demodicose canina generalizada: relato de caso**. 12f. 2008. Monografia (Curso de Especialização Latu Sensu em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais) Curitiba, 2008
- CRUZ, A.R.; PAES, A.C.; SIQUEIRA, A.K. **Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas isoladas de cães frente a antimicrobianos**. Veterinária e Zootecnia., v.19, n.4, p.601-610, 2012;
- HUSSAIN, A.I. et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. **Brazilian Journal Microbiology**, v.41, n.4, p.1070-1078, 2010;
- LANGNEGGER, J.; FIGUEIREDO, M. P.; RESENDE, E. F. Eficácia terapêutica de Cefacetrile frente aos microrganismos do gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus* isolados de mastites subclínicas. **A Hora Veterinária**, v. 30, p. 24-27, 1986;
- MAY, E. R. et al. Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from healthy dogs and dogs with otitis, pyoderma or both. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.227, p. 928-931, 2006;
- MENDES, Z. F. et al. **Avaliação da atividade antimicrobiana da tintura e pomada de *Ruta graveolens* (Arruda) sobre bactérias isoladas de feridas cutâneas em cães**. Medicina Veterinária, Recife, v.2, n.3, p.32-36, 2008;
- MENG, J. et al. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 and O157:NM isolated from animals, food and humans. **Journal of Food Protection**, v.61, n.11, p.1511- 1514, 1998;
- NASCIMENTO, G.G.F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.31, n.2, p.247-256, 2000;
- OLIVEIRA, L. C. et al. Susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de otite externa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p. 405-408, 2005;
- PENA, S. B. **Frequência de dermatopatias infecciosas, parasitárias e neoplásicas em cães na região de Graça, São Paulo – Brasil. 2009**. 12f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, São Paulo, 2009;
- POZZO, M.D.; VIÉGAS, J.; SANTURIO, D.F. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* spp isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v.41, n.4, p.667-672, 2011;
- SILVA, M. G. F. **Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 2011. 70f. Trabalho de conclusão de Curso de Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Pato Branco, 2011;
- SPINOSA H.S. 1996. Antibióticos: tetraciclina e cloranfenicol, p.368-371. In: Ibid. (Ed.), **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. Guanabara Koogan, São Paulo;
- TENSSAY Z. W. *Staphylococci: frequency of isolation and antibiotic susceptibility patterns in Jimma Hospital, south-west Ethiopia*, 2000;
- ULTEE, A.; SMID, E.J. **Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus***. International Journal Food of Microbiology, v.64, 373-378, 2001;
- WEESE, J.S. et al. **Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household**. *Veterinary Microbiology*, v.115, p.148-155, 2006.