

***Staphylococcus aureus* EM ANIMAIS SILVESTRES EM UM CENTRO DE REABILITAÇÃO**

STEPHANYA TIMM¹; DÉBORA RODRIGUES SILVEIRA²; THAMÍRIS PEREIRA DE MORAES³; FERNANDA ROCHEDO TAGES⁴; LARISSA CALÓ ZITELLI⁵; CLÁUDIO DIAS TIMM⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – fana_timm@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – debora.rsilveira@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – mirismoraes@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas - nandartmr@yahoo.com.br*

⁵*Universidade Federal de Pelotas - larissazitelli@terra.com.br*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – timm@ufpel.edu.br*

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é reconhecido como o país com a maior diversidade biológica do mundo (NASCIMENTO e CAMPOS, 2011). Contudo, o tráfico ilegal dos animais da fauna silvestre vêm comprometendo a sobrevivência das espécies em seu habitat (LADEIA e FENNER, 2010). Esse fato se reflete no aumento do volume de atendimentos e apreensões em centros de reabilitação (LEITE, 2012) e no aumento da casuística de doenças que podem ser transmitidas ao ser humano e vice-versa (ZAGO, 2008).

Muitas espécies de animais silvestres de vida livre servem como reservatório de bactérias patogênicas que ameaçam a saúde humana e dos animais domésticos. Em contrapartida, as espécies silvestres de vida livre que vivem próximas a animais domésticos e humanos podem se contaminar e assim perpetuar patógenos no ambiente, oferecendo risco à preservação da biodiversidade (DASZAK et al., 2000).

Staphylococcus aureus é um patógeno frequentemente encontrado em vias aéreas de animais e humanos, sendo encontrado também no trato gastrintestinal de algumas aves e mamíferos silvestres (CASTRO-SILVA et al., 2011).

Segundo o Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 2006), a espécie *S. aureus* é capaz de produzir sete tipos diferentes de toxinas que, quando ingeridas, podem causar intoxicação alimentar, constituindo uma grande preocupação para as autoridades da indústria alimentícia e saúde pública. Os sintomas têm início rápido (2 a 6 horas), sendo vômito, dor abdominal e cólica estomacal os mais comuns (COLOMBARI et al., 2007).

O Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre (NURFS) da Universidade Federal de Pelotas, desde 1998, recebe e trata os exemplares da fauna silvestre oriundos de apreensões, doações, acidentes ou órfãos. Atualmente, é a principal referência de apoio ao trabalho de fiscalização e apreensão de animais silvestres (NURFS, 2008).

O objetivo desse trabalho foi verificar a presença de *S. aureus* em animais silvestres em processo de reabilitação no NURFS-UFPel.

2. METODOLOGIA

Durante o período de julho de 2016 a julho de 2017, foram obtidas amostras de fezes de 162 animais alojados no NURFS-UFPel diretamente da cloaca ou do ânus, conforme o caso, com uso de zaragatoas estéreis. Estas foram

encaminhadas ao laboratório em meio de transporte Cary Blair (Himedia, Mumbai, Índia) em caixas isotérmicas com gelo. Amostras de fezes foram coletadas de 130 aves, 27 mamíferos e cinco répteis.

Para a determinação da presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, foi realizada a técnica recomendada nos Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal recomendados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003). As zara-gatoas com as amostras de fezes foram diretamente semeadas em superfície de ágar Baird-Parker (Himedia, Mumbai, India) e incubadas a 37°C por 48 h. Cinco colônias por amostra foram inoculadas em caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI, Himedia) e incubadas a 37°C por 24 h para realização da prova da coagulase, que consistiu na mistura de 0,3 mL de cada cultura com 0,3 mL de plasma de coelho e incubação a 37°C por 6 h para observação da capacidade do microrganismo coagular o plasma pela ação da enzima coagulase.

As culturas em BHI, dos isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva, foram misturadas com 20% de glicerol, para manutenção de estoque a -20°C.

O material genético de cada isolado de *Staphylococcus* coagulase positiva foi extraído conforme o recomendado por Sambrook e Russel (2001) e foi realizada multiplex-PCR, de acordo com protocolo relatado por Takashi et al. (2010) para identificação das espécies *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus*, através da pesquisa da presença do gene *nuc* com uso dos primers representados na Tabela 1. Os produtos da PCR foram corados com GelRed (Uniscience, São Paulo, Brasil) para eletroforese em gel de agarose (Panreac Química SA, Barcelona, Espanha) a 1% e visualizados por fotografia com luz Ultravioleta no transiluminador.

Tabela 1 - Primers utilizados na identificação das espécies de *Staphylococcus* spp.

Primer	Sequência (5' a 3')	Gene alvo	Tamanho da amplificação (pb)	Espécie
au-F3	TCGCTTGCTATGATTGTGG	nuc	359	<i>S. aureus</i>
au-nucR	GCCAATGTTCTACCATAGC			
in-F	CATGTCATATTATTGCGAATGA	nuc	430	<i>S.intermedius</i>
in-R3	AGGACCACATACCATTGACATATTGAAACC			
hy-F1	CATTATATGATTGAAACGTG	nuc	793	<i>S. hyicus</i>
hy-R1	GAATCAATATCGAAAGTTGC			

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 162 amostras de fezes analisadas durante o estudo, 11 (6,79%) apresentaram *S. aureus*, sendo quatro da classe de mamíferos, seis de aves e um de répteis.

Das 130 aves amostradas, seis (4,61%) albergavam *S. aureus*. O microrganismo foi detectado em um Bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*), uma Caturrita (*Myiopsitta monachus*), uma Coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*), uma Rolinha-picuí (*Columbina picui*), um Anu-branco (*Guira guira*) e um Chimango (*Milvago chimango*). Das 27 espécies de mamíferos amostradas, *S. aureus* foi isolado de quatro (14,81%), um gambá (*Didelphis albiventris*) filhote e

um gambá adulto, um zorrilho (*Conepatus chinga*) filhote e um bugio-ruivo (*Alouatta guariba*) filhote. Das cinco espécies de répteis analisadas, uma (20%) albergava *S. aureus*, uma tartaruga-tigre-d'água (*Trachemys dorbigni*).

Matias et al. (2014), após realizar o isolamento e caracterização de enteropatógenos bacterianos de aves provenientes do tráfico de animais selvagens no Rio de Janeiro, demonstrou que cepas de *Staphylococcus* spp. foram isolados de 45,9% (50/109) das amostras, incluindo a espécie *Pitangus sulphuratus*, resultado também encontrado no nosso estudo. Nesse mesmo trabalho, 11% dos isolados eram *S. aureus*, 3,6% *S. intermedius* e 1,8% *S. hyicus*, diferentemente do nosso estudo, onde todos isolados eram *S. aureus*.

Outro estudo, realizado por Santos et al. (2010) detectou *Staphylococcus* spp. em 49% (25/51) de amostras de fezes de aves silvestres da família Cracidae e 29,4% dos isolados eram *Staphylococcus aureus*. As aves viviam dentro de recintos telados tendo contato direto com outras aves, o que pode favorecer a transmissão do patógeno e propiciar a alta prevalência encontrada.

4. CONCLUSÕES

As espécies de animais silvestres *Pitangus sulphuratus*, *Myiopsitta monachus*, *Athene cunicularia*, *Colombina picui*, *Guira guira*, *Milvago chimango*, *Didelphis albiventris*, *Alouatta guariba*, *Conepatus chinga* e *Trachemys dorbigni* podem albergar *Staphylococcus aureus* e eliminar o patógeno nas fezes, oferecendo risco de disseminação desse microrganismo no ambiente, constituindo possíveis fontes de contaminação para humanos e outros animais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água: Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. **Diário Oficial da União**, Brasília. Seção I, p.14-51.

CASTRO-SILVA, M.A.; MANOEL, F.C.; KRUEGER, J.; BARREIROS, M.A.B.; BRANCO, J.O. Identificação de bactérias potencialmente patogênicas a humanos presentes em *Sula leucogaster* (Suliformes: Sulidae), no litoral de Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Ornitologia**, São Paulo, v.19, n.4, p.520-524, 2011.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC. **Staphylococcal food poisonig.** 2006. Disponível em: <www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/staphylococcus_food_g.htm>. Acesso em: 27 set. 2017.

COLOMBARI, V.; MAYER, M.D.B.; LAICINI, Z.M.; MAMIZUKA, E.; FRANCO, B.D.G.M.; DESTRO M.T.; LANDGRAF, M. Foodborne Outbreak Caused by *Staphylococcus aureus*: Phenotypic and Genotypic Characterization of Strains of Food and Human Sources. **Journal of Food Protection**, São Paulo, v.70, n.2, p.489–493, 2007.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. **Science**, Washington, v.287, n.5452, p.443-449, 2000.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 182 p.

LADEIA, L.Q.; FENNER, A. **Tráfico de animais silvestres**. 2010. 20f. Monografia (Especialização em Biociências Forenses) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia.

LEITE, T.O. **Uma discussão sobre a problemática da captura ilegal de aves no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil**. 2012. 36f, Monografia (Especialização em Diversidade e Conservação da Fauna) – Pós-graduação na área de Especialização em Diversidade e Conservação da Fauna. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

NASCIMENTO, J.L.; CAMPOS, I.B. **Atlas da fauna brasileira ameaçada de extinção em unidades de conservação federais**. Brasília: ICMBio, 2011.

NURFS. **Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre**. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 25 jun. 2016. Acessado em 25 jun. 2016. Online. Disponível em <http://wp.ufpel.edu.br/nurfs/>

MATIAS, C.A.R. **Isolamento e caracterização de enteropatógenos bacterianos em aves provenientes do tráfico de animais selvagens no estado do Rio de Janeiro - Brasil: riscos para a saúde pública**. 2014. Tese apresentada com vistas à obtenção do título de Doutor em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente, Escola Nacional de Saúde Pública.

SAMBROOK, J & RUSSEL, D.W. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 3.ed. Nova York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 999-p.

SANTOS, H.F.; FLÓRES, M.L.; LARA, V.M; SILVA, M.S.; BATTISTI, L.; LOVATO, L.T. Cloacal microbiota identification and evaluation of the antimicrobial resistance in captive cracids from Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.30, n.12, p.1077-1082, 2010.

TAKASHI, S.; TSUBAKISHITA, S.; TANAKA, Y.; SAKUSABE, A.; OHTSUKA, M.; HIROTAKI, S.; KAWAKAMI, T.; FUKATA, T.; HIRAMATSU, K. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive Staphylococci. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 3, p. 765-769, 2010.

ZAGO, D.C. **Animais da fauna silvestre mantidos como animais de estimação**. 2008. Monografia apresentada ao Curso de Especialização do Programa de Pós-Graduação em Educação Ambiental, da Universidade Federal de Santa Maria, RS.