

***Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA ISOLADOS DE ANIMAIS SILVESTRES DE UM CENTRO DE REABILITAÇÃO**

PALOMA PEREIRA DE AVILA¹; DÉBORA RODRIGUES SILVEIRA²; FABÍOLA CARDOSO VIEIRA³; THAMÍRIS PEREIRA DE MORAES⁴; IVES FEITOSA DUARTE⁵; CLÁUDIO DIAS TIMM⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – palomaavila92@gmail.com*

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

³*Universidade Federal de Pelotas – fabiolavieiravet@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – mirismoraes@hotmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – ives.feitosa@gmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – claudiotimm@hotmail.com*

1. INTRODUÇÃO

O impacto da ação humana no meio ambiente vem proporcionando um maior contato entre humanos e animais domésticos ou silvestres, facilitando assim a disseminação de agentes infecciosos e parasitários entre esses hospedeiros (CORRÊA e PASSOS, 2001). A prática de comércio ilegal de animais silvestres e exóticos no Brasil e exterior, impõem à fauna silvestre condições de vida insalubres, tornando-os doentes. Além disso, após o resgate pelas autoridades, estes animais podem apresentar condições imunológicas e debilidades físicas decorrentes da má alimentação e confinamento em ambientes apertados e superpopulosos, tornando-os potenciais fontes de disseminação de zoonoses (BARBOSA et al., 2011). Entre as zoonoses mais comuns estão as causadas pelas bactérias. Alguns gêneros e espécies bacterianas desenvolveram resistência a diferentes antibióticos. Neste grupo encontra-se *Staphylococcus aureus*. Sua resistência à meticilina é conferida pelo gene *mecA*, que codifica para a produção de proteínas de ligação alteradas (PBP2a ou PBP2') estabelecendo baixa afinidade para todos os antimicrobianos beta-lactâmicos (WEESE et al., 2010). Para a identificação de MRSA, pode ser utilizado o antibiótico cefoxitina, uma vez que a meticilina não é mais produzida pela indústria farmacêutica (ZURITA et al., 2010).

O objetivo desde trabalho foi realizar a identificação molecular de *Staphylococcus aureus*, dentre isolados *Staphylococcus* coagulase positiva previamente obtidos de fezes de animais silvestres mantidos em um núcleo de reabilitação e testar a resistência dos isolados frente a cefoxitina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 40 isolados de *Staphylococcus coagulase* positiva obtidos a partir de amostras de fezes coletadas de 251 animais, de espécies variadas, quando deram entrada no Núcleo de Reabilitação de Fauna Silvestre (NURFS) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no período de maio de 2015 à abril de 2017. Dos isolados, por vezes mais de um do mesmo animal, foram realizadas as extrações dos DNAs, conforme Sambrook e Russel (2001). Em sequência, foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR), pesquisando a presença do gene *nuc* com uso dos primers au-F3 e au-nucR para identificação da espécie *S. aureus* (TAKASHI et al., 2010). As cepas que foram confirmadas como *S. aureus* foram submetidas ao teste de disco difusão em ágar Müller-Hinton (Kasvi, Itália) utilizando o disco de cefoxitina (SKOV et al., 2003) para a identificação de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente

(MRSA). Os resultados obtidos foram avaliados segundo o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015), que considera o microrganismo resistente quando o halo possuir diâmetro menor ou igual a 21 mm e sensível com diâmetro maior ou igual a 22 mm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 52 isolados de *Staphylococcus coagulase positiva* analisados, 40 foram identificados como *S. aureus*, o que significa que dentre os 251 animais coletados, 15,9% eram portadores desta bactéria (Tabela 1). Destes 40 *S. aureus*, 32 (80%) foram identificados como MRSA.

Tabela 1- Relação de animais portadores de *Staphylococcus aureus* e sensibilidade da cepa à cefoxitina (CFO)

Classe	Espécie		Sensibilidade à CFO
	Nome comum	Nome científico	
Aves	Andorinha-do-campo (1)	<i>Progne tapera</i>	R*
	Andorinha-do-campo (2)	<i>Progne tapera</i>	R
	Bem-te-vi (1)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	R
	Bem-te-vi (2)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	S*
	Bem-te-vi (3)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	R
	Bem-te-vi (4)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	S
	Bem-te-vi (5)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	R
	Bem-te-vi (6)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	R
	Bem-te-vi (7)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	R
	Bem-te-vi (8)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	R
	Bem-te-vi (9)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	R
	Bem-te-vi (10)	<i>Pitangus sulphuratus</i>	R
	Caturrita	<i>Myiopsitta monachus</i>	R
	Coleiro-do-brejo	<i>Sporophila collaris</i>	R
	Coruja-de-igreja	<i>Tyto furcata</i>	R
	Corujão	<i>Bubo virginianus</i>	R
	Coruja-orelhuda	<i>Asio clamator</i>	R
	Gaivotão	<i>Larus dominicanus</i>	R
Aves	Gavião-cauda-curta	<i>Buteo brachyurus</i>	R
	Marreca-pardinha	<i>Anas flavirostris</i>	R
	Marreca-piadeira (1)	<i>Dendrocygna viduata</i>	R
	Marreca-piadeira (2)	<i>Dendrocygna viduata</i>	R
	Pica-pau-do-campo	<i>Colaptes campestris</i>	R
	Pomba-de-bando (1)	<i>Zenaida auriculata</i>	R
	Pomba-de-bando (2)	<i>Zenaida auriculata</i>	R
	Pomba-de-bando (3)	<i>Zenaida auriculata</i>	S
	Pomba-de-bando (4)	<i>Zenaida auriculata</i>	R

	Quero-quero	<i>Vanellus chilensis</i>	R
	Sabiá-laranjeira	<i>Turdus rufiventris</i>	R
	Sanhaço-papa-laranja	<i>Pipraeidea bonariensis</i>	S
	Tesourinha	<i>Tyrannus savana</i>	R
Mamíferos	Gambá (1)	<i>Didelphis albiventris</i>	S
	Gambá (2)	<i>Didelphis albiventris</i>	S
	Gambá (3)	<i>Didelphis albiventris</i>	R
	Gambá (4)	<i>Didelphis albiventris</i>	S
	Gambá (5)	<i>Didelphis albiventris</i>	S
	Gambá (6)	<i>Didelphis albiventris</i>	R
	Macaco-prego	<i>Sapajus nigritus</i>	R
	Ratão-do-banhado	<i>Myocastor coypus</i>	R
Répteis	Cágado-de-pescoço-comprido	<i>Hydromedusa tectifera</i>	R

*R = resistente; S = sensível

Este estudo é o primeiro relato de isolamento de *S. aureus* de fezes de *Progne tapera*, *Colaptes campestris*, *Pipraeidea bonariensis* e *Tyrannus savana*. A ocorrência de *S. aureus* em 15,9% das fezes de animais silvestres de diferentes classes demonstra que este microrganismo está amplamente disseminado na natureza e se adapta a diferentes espécies de animais. Monecke et al. (2016), assim como no presente estudo, isolaram *S. aureus* das fezes de diferentes espécies de aves, 1,5% (1/65) de *Cygnus olor*, 42,86% (3/71) de *Aquila chrysaetos*, 25% (1/4) de *Haliaeetus albicilla*, 12,5% (1/8) de *Strix aluco*, 1% (2/190) de *Perdix perdix*, 100% (2/2) de *Picus viridis*, 10,34% (3/29) de *Pica pica*, 8,82% (9/102) de *Corvus frigilegus* e 9,1% (1/11) de *Parus major*, todos capturados na Alemanha, Áustria e Suécia.

Os centros de reabilitação têm por finalidade principal a soltura dos animais novamente para o ambiente. Caso estes ainda carreem micro-organismos patogênicos em seus intestinos, podem liberá-los na natureza, após a soltura. Segundo Steele et al. (2005), a contaminação de animais e humanos por patógenos em um centro de reabilitação pode ser evitada, já que esses micro-organismos são disseminados, na maioria das vezes, por via fecal-oral. Essa disseminação pode ser reduzida com higiene, manejo e desinfecção adequadas.

4. CONCLUSÕES

Diversas espécies de animais silvestres em reabilitação, tanto aves como mamíferos e répteis, podem ser portadores de *S. aureus*, incluindo MRSA, e

eliminar-lo nos fezes, o que representa um problema de saúde pública, uma vez que os animais podem transmiti-lo a outros animais ou humanos e/ou perpetuá-lo no ambiente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, A.D.; MARTINS, N.R.S.; MAGALHÃES, D.F. Zoonoses e saúde pública: riscos da proximidade humana com a fauna silvestre. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife-PE, v. 14, p. 1-9, 2011.

CLSI, C. M02-A11 performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Wayne, Pennsylvania, USA: **Clinical and laboratory standards institute** (CLSI), 950p, 2012.

CORRÊA, S.H.R.; PASSOS, E.C. **Wild animals and public health**. In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. Biology, medicine, and surgery of South American wild animals. Ames: Iowa University Press, p. 493-499, 2001.

GOMES, C.M.B; SILVA B.K.; OLIVEIRA, S.A.; BEZERRA, L.M. Determinação de enterobactérias de mamíferos silvestres em criadouro conservacionista. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, n. 2, p. 74-80, 2011.

MONECKE, S.; GAVIER-WIDÉN, D.; HOTZEL, H.; PETERS, M.; GUENTHER, S.; LAZARIS, A.; LONCARIC, I.; MÜLLER, E.; REISSIG, A. Diversity of *Staphylococcus aureus* isolates in European wildlife. **PLoS ONE**, v.11, n.12: e0168433, p.1-27, 2016.

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

SKOV, R.; SMYTH, R.; CLAUSEN, M.; LARSEN, A.R.; FRIMODT-MØLLER, N.; OLSSON-LILJEQUIST, B.; KAHLMETER, G. Evaluation of a cefoxitin 30 µg disc on Iso-Sensitest agar for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, 52(2), 204-207, 2003.

STEELE, C. M.; BROWN, R. N.; BOTZLER, R. G. Prevalence of zoonotic bacteria among seabirds in rehabilitation centers along the Pacific Coast of California and Washington, USA. **Journal of Wildlife Diseases**, v.41, n.4, p.735-744, 2005.

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.

WEESE, J.S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals. **ILAR Journal**, Oxford, v. 51, n. 3, p. 233-244, 2010.

ZURITA, J.; MEJIA, C.; GUZMÁN- BLANCO, M. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. **Brazilian Journal Infectious Diseases**, v.14, n.2, p.97-107, 2010.