

IDENTIFICAÇÃO E SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE *STAPHYLOCOCCI* ISOLADOS DE CÃES COM INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO INFERIOR

PENNA, B.; VARGES, R.; MARTINS, R.; MARTINS, G.[†]; PINNA, M.; LILENBAUM, W.

Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Universidade Federal Fluminense. Rua Prof. Ernani Pires de Melo, 101, 24210-130, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil

Palavras chave: *Staphylococcus*, ITU, antimicrobiano, cão.

1. Introdução

A infecção do trato urinário (ITU) é uma das afecções mais comuns que acometem os cães e estão entre as mais comuns indicações de antibioticoterapia (Ling, 2000). Um diagnóstico de ITU pode ser feito através da associação dos sinais clínicos e da urinálise, porém, cultura de urina e testes de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos (TSA) são determinantes para um diagnóstico definitivo bem como para determinação do tratamento a ser instituído.

As bactérias mais freqüentemente envolvidas em infecções do trato urinário são membros dos gêneros *Escherichia sp.*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Streptococcus sp.* e *Staphylococcus sp.* (Gratoria et al., 2006). *Staphylococci* são rotineiramente isolados de cães e, além de fazerem parte da microbiota normal da pele e de mucosas, são responsabilizados por diversas infecções nos animais domésticos, tais como otites, dermatites, conjuntivites e ITU, podendo ainda causar infecções sistêmicas como pneumonias e septicemia (Lilenbaum et al., 2000).

Desde a introdução de drogas antimicrobianas na prática da medicina moderna, os *Staphylococcus* evoluíram em resposta a essa pressão (Morris et al., 2006). As infecções causadas por esse gênero bacteriano são rotineiramente tratadas com uso de antibióticos e, conseqüentemente, a resistência às drogas tem sido um achado cada vez mais comum (Prescott et al., 2002). Já na medicina veterinária, o uso indiscriminado de antibióticos sem resultados de cultura bacteriológica e o TSA tem contribuído enormemente para o aparecimento de cepas multiresistentes de bactérias.

O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade de espécies e a susceptibilidade aos antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus* isolados de cães do Rio de Janeiro com ITU.

2. Material e Métodos.

2.1. *Isolados* – Estudou-se 101 amostras de *Staphylococcus* obtidos a partir de urina colhida de cães não medicados, de ambos os sexos e com sintomas clínicos sugestivos de ITU, tais como disúria, piúria ou hematúria, de acordo com exame clínico e urinálise. Animais com histórico de uso recente de antibióticos (60 dias) não foram incluídos no estudo. As amostras de urina foram colhidas por cistocentese ou por sondagem. Neste segundo caso foi feita prévia antisepsia dos órgãos genitais.

2.2. *Cultura bacteriana* – Depois de colhidas as amostras de urina foram imediatamente semeadas em placas contendo meio de Agar sangue a 5% e incubadas a 37°C por 48 horas em condições de aerobiose. A presença de infecção só foi considerada quando o crescimento bacteriano mostrou-se maior ou igual que 10³UFC/mL ((Bubenik et al. 2007)). Placas com crescimento bacteriano compatível com *Staphylococcus* sp. foram transferidas para Agar Trypticase Soja, Agar Streptokoken e Agar Manitol Salgado (Merck).

2.3. *Identificação bacteriana* – Após o crescimento das amostras, as espécies de *Staphylococcus* foram identificadas com base nas características coloniais, morfotintórias, produção de pigmento, resistência a Bacitracina 0,04 (U) e provas bioquímicas diversas, tais como: prova da catalase, prova OF (fermentação/oxidação) da glicose em meio Hugh e Leifson, teste da coagulase *in vitro* utilizando-se plasma de coelho, produção de acetoina, urease (Difco), resistência à novobiocina (Pimenta Abreu) e teste da DNase (BBL), além da fermentação de manitol – meio Chapman (Merck). Espécies de *Staphylococcus* foram classificadas como descrito em estudos prévios anteriores (Lilenbaum et al., 2000) e de acordo com o Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt et al., 1994).

2.4. *Teste de sensibilidade aos antimicrobianos* – Todos os isolados foram testados para susceptibilidade aos agentes antimicrobianos pelo método de difusão em discos em Agar Mueller Hinton (Difco) e incubados a 37°C, como descritos anteriormente. Discos de Amoxicilina associada ao Ácido Clavulânico (AMC) (30µg), Amoxicilina (10µg), Ampicilina (10µg), Oxacilina (5µg), Amicacina (30µg), Gentamicina (10µg), Enrofloxacina (5µg), Ciprofloxacina (5µg), Lomefloxacina (10µg), Norfloxacina (10µg), Sulfametoxazol-trimetoprim (25µg), Cloranfenicol (30µg), Floranfenicol (30µg) e Cefuroxima (30µg) foram utilizados. Após avaliação do diâmetro dos halos de inibição e seguindo padrões determinados pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (2008), as amostras foram definidas como susceptíveis ou resistentes.

3. Resultados e discussão.

Dentre as 101 amostras de *Staphylococcus* estudadas as espécies coagulase-positivas (CoPS) representaram 61,4% das espécies de *Staphylococcus* isoladas (62 isolados) . Dentre estas, a mais frequentemente encontrada foi *S. intermedius* com 42 isolados (41,6%), seguida de *S. aureus* (19,8%). Já as espécies coagulase-negativas (CoNS) foram isoladas a partir de 39 amostras (38,6%), divididas entre *S. epidermidis* (37,6%) e *S. simulans* (1,0%), conforme Tabela 1.

A predominância das espécies de CoPS é um achado esperado que concorda com outros estudos (Ling, 2000; Prescott et al., 2002). A predominância de isolados de *S. intermedius* em relação aos de *S. aureus* também está de acordo com outros relatos (Biberstein et al., 1984). *S.intermedius* é reconhecido como a principal espécie de *Staphylococcus* sp. em cães (Ling, 2000), tendo sido descrito em diversas infecções nesta espécie, incluindo ITU (Lilenbaum et al., 2000).

Já as espécies de CoNS são constituintes de membros da microbiota normal de diversas mucosas dos animais domésticos e do homem (Lilenbaum et al., 1999). No entanto, elas também apresentam potencial infeccioso, já tendo sido descrito como

agentes de diversas infecções oportunistas tais como otites e infecções do trato urinário em cães (Lilenbaum et al., 2000).

A resistência a antimicrobianos foi um achado comum. Todas as cepas apresentaram resistência à pelo menos um agente antimicrobiano e 77,1% se mostraram multiresistentes às drogas testadas. Esses resultados concordam com diferentes autores, como Hoekstra & Paulton (2002), que reportaram 95% de isolados resistentes e 67,3% de multiresistência. De acordo com os autores o gênero *Staphylococcus* tem mostrado um rápido desenvolvimento de resistência aos agentes antimicrobianos. No presente estudo uma cepa de *S. aureus* mostrou-se resistente a todos os antimicrobianos testados, o que representa um achado alarmante que evidencia o aparecimento de infecções multiresistentes do trato urinário canino em nosso meio, tal qual descrito em outros países (Hoekstra & Paulton, 2002; Prescott et al., 2002; Morris et al., 2006).

Com o uso indiscriminado de antibióticos na prática clínica da medicina veterinária a resistência aos antimicrobianos tem se tornado um achado cada vez mais constante. *Staphylococcus* de origem canina tem demonstrado um rápido crescimento de resistência aos antimicrobianos. No entanto, ao contrário do que se podia esperar, este alarmante achado tem sido pouco divulgado. O presente estudo chama a atenção para o aparecimento cada vez mais comum de espécies de *Staphylococcus* coagulase negativos (CoNS) como agentes causadores de infecção em cães e ainda explicita a importância do uso mais consciente dos agentes antimicrobianos enfatizando a importância da cultura e do teste de sensibilidade aos antimicrobianos para a instituição da terapia antimicrobiana adequada.

Tabela 1: Frequência de diferentes espécies de *Staphylococcus* isolados de infecções do trato urinário de 101 cães.

Espécie	Número de amostras
<i>S. intermedius</i>	42
<i>S. aureus</i>	20
<i>S. epidermidis</i>	38
<i>S. simulans</i>	1
TOTAL	101

Referências bibliográficas

- Anonymous (2008) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 9th ed. Approved Standard Document. Villanova. Pa. National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Biberstein. E.L., Jang. S.S. and Hirsh. D.C. (1984) Species distribution of coagulase-positive Staphylococci in animals. *J Clin Microbiol* 19. 610-615.

- Bubenik, L. J., Hosgood, G. L., Waldron, D. R. , Snow, L. A. (2007) Frequency of urinary tract infection in catheterized dogs and comparison of bacterial culture and susceptibility testing results for catheterized and noncatheterized dogs with urinary tract infections. *J. Am. Vet. Med.Assoc.* 231. 893-899.
- Gratoria, I.S., Siani, N.S., Rai, T.S. and Dwivedi, P.N. (2006) Comparison of three techniques for the diagnosis of urinary tract infections in dogs with urolithiasis. *J Small Anim Pract* 47. 727–732.
- Hoekstra, K.A. and Paulton, R.J.L. (2002) Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staph. intermedius* in dogs. *J Appl Microbiol.* 93. 406–413.
- Holt. J.G., Krieg. N.R. and Sneath. P.H.A. and Williams. S.T. (1994) *Staphylococcus* spp. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins. pp. 544-551.
- Lilenbaum, W., Nunes, E.L.C. and Azevedo, M.A.I. (1999) Prevalence and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the skin surface of clinical normal cats. *Lett Appl Microbiol.* 28. 448-452.
- Lilenbaum, W., Veras, M., Blum, E. and Souza, G.N. (2000) Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs. *Lett Appl Microbiol.* 31. p.42-45.
- Ling, G.V. (2000) Bacterial infections of the urinary tract. Editors Ettinger. S.J. Feldman. E.C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Diseases of the Dog and Cat. Philadelphia. U.S.A. W.B. Saunders Company. pp. 1678-1686.
- Morris, D.O., Rook, K.A., Shofer, F.S. and Rankin, S.C. (2006) Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003–04). *Vet Dermatol.* 17(5). 332-7.
- Prescott, J.F., Hanna, W.J.B., Smith, R.R. and Drost. K. (2002) Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *Can Vet J.* 43.107–116.
- Wooley, R. E. & Blue, J. L. Quantitative and bacteriological studies of urine specimens from canine and feline urinary tract infections. *J Clin Microbiol.* 4, 326-329, 1976.