



## DISTRIBUIÇÃO E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ESTAFILOCOCOS ISOLADOS DE QUATIS DE VIDA LIVRE EM MINAS GERAIS, BRASIL

Isabela Pádua Zanon<sup>1\*</sup>, Clara Alcântara Lara de Mesquita<sup>1</sup>, Giulia Said Oliveira<sup>1</sup>, Isadora Maria Soares de Melo<sup>1</sup>, Jordana Almeida Santana<sup>2</sup>, Rafael Gariglio Clark Xavier<sup>2</sup>, Rodrigo Otávio Silveira Silva<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil – \*Contato: paduaisabela@gmail.com

<sup>2</sup>Discente no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>3</sup> Docente do Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

### INTRODUÇÃO

O quati sul-americano (*Nasua nasua*) pertence à família Procyonidae e é amplamente distribuído pela América do Sul tropical e subtropical<sup>8</sup>. Em função da perda de habitat, essa espécie ocupa áreas urbanas, transitando entre áreas selvagens e domésticas<sup>8</sup>. Esses animais podem ser reservatórios de vários patógenos, tais como *Leptospira* spp., *Trypanosoma cruzi*, vírus da raiva e *Staphylococcus* spp<sup>8</sup>.

*Staphylococcus* spp. são importantes bactérias comensais, que podem causar uma grande variedade de doenças em humanos e animais<sup>6</sup>. Em continuidade, são caracterizadas por serem oportunistas, sendo frequentemente associadas com infecções nosocomiais em medicina veterinária. Também podem apresentar perfil de multirresistência, com destaque para estafilococos resistente à meticilina (MRS), incluindo *S. aureus* (MRSA) e *S. pseudintermedius* (MRSP)<sup>11</sup>.

O gênero é dividido em dois grupos, conforme a produção da enzima coagulase: estafilococos coagulase-positivos (CoPS) e estafilococos coagulase-negativos (CoNS)<sup>6</sup>. Enquanto os CoPS são responsáveis pela maioria das infecções, os CoNS compreendem a maioria dos estafilococos comensais de hospedeiros distintos e estão relacionados às infecções em uma variedade de espécies, incluindo seres humanos<sup>6,10</sup>.

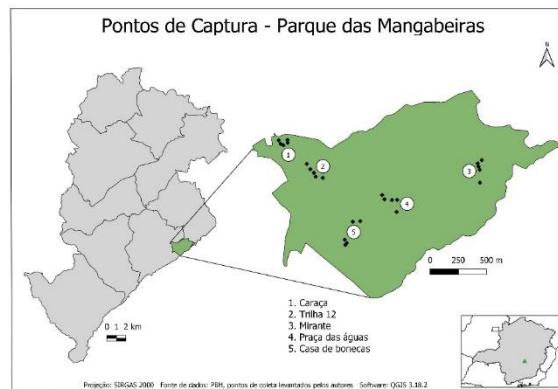
Considerando o íntimo contato de quatis com seres humanos em ambientes urbanos e a notável falta de dados sobre estafilococos potencialmente patogênicos nesses animais, o objetivo deste estudo foi isolar e avaliar a frequência, distribuição e susceptibilidade antimicrobiana de espécies estafilocócicas de quatis (*Nasua nasua*) amostrados do Parque Municipal das Mangabeiras (Belo Horizonte, Minas Gerais).

### METODOLOGIA

O estudo foi conduzido no Parque Municipal das Mangabeiras, localizado em Belo Horizonte, Minas Gerais. É considerado um dos maiores parques urbanos do Brasil e está localizado em uma área em contato com alguns bairros da cidade, embora cercado por vegetação nativa e outras áreas de preservação ambiental<sup>4</sup>. Em função da localização em ambiente urbano, os limites do parque sustentam considerável impacto ambiental decorrente da pressão antrópica.

Ao todo, foram amostrados cinquenta e cinco quatis de vida livre, sendo onze capturados em março de 2019 e 44 capturados entre janeiro e julho de 2021. A captura ocorreu por meio de armadilhas de ferro galvanizado do tipo Tomahawk<sup>®</sup> com desarme de pedal, nas dimensões de 70 cm x 35 cm x 40 cm e 70 cm x 30 cm x 20 cm, iscadas com banana. Cinco armadilhas foram colocadas em cinco pontos estratégicos de passagem dos animais e foram referenciadas geograficamente por GPS (Fig. 1).

Após a captura, os animais foram inspecionados visualmente para estimativa de peso e cálculo do volume anestésico a ser aplicado. Os quatis que não possuíam identificação prévia receberam um implante de microchip subcutâneo na região interescapular e colocação de brinco de polipropileno numerado. Depois da identificação, amostras de suabes retais foram coletadas, colocadas em microtubos estéreis, armazenadas em uma caixa de transporte com gelo reciclável e transportadas para o Laboratório de Bacterioses e Pesquisa da Escola Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), onde foram processadas imediatamente. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da UFMG sob o protocolo 100/21, pelo Sisbio sob o protocolo 75831 e pela Fundação de Parques Municipais e Zoobotânica de Belo Horizonte sob o protocolo FU 004-2020.



**Figura 1:** Distribuição dos pontos de colocação de armadilhas para a captura de quatis (*Nasua nasua*) no Parque Municipal das Mangabeiras, Belo Horizonte, Minas Gerais (Fonte Autoral).

Para o isolamento de *Staphylococcus* spp., os suabes foram estriados em ágar manitol salgado, incubados a 37 °C por 24 horas. Colônias sugestivas foram repicadas em ágar Broth Heart Infusion (BHI) e identificadas por espectrometria de massas (MALDI-ToF). Os isolados identificados como integrantes do grupo *S. intermedius* (SIG) pelo MALDI-ToF foram confirmados por PCR *multiplex* do gene *nuc*<sup>7</sup>. Os isolados não-SIG com escore do MALDI-ToF abaixo de 2,0 foram submetidos ao sequenciamento do gene *16S rRNA* e, caso necessário, ao sequenciamento do gene *rpoB*<sup>2</sup>.

Os testes de susceptibilidade antimicrobiana foram realizados usando disco-difusão em ágar, conforme o documento M100-S31 do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)<sup>1</sup>. Os seguintes antimicrobianos foram testados: cefoxitina (30 µg), penicilina G (10 unidades), tetraciclina (30 µg), trimetoprim/sulfametoxazol (25 µg), cloranfenicol (30 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), gentamicina (10 µg), rifampicina (5 µg) e ciprofloxacina (5 µg). *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 foi usado como controle. Além disso, a extração de DNA foi realizada, segundo Pitcher, Saunders e Owen (1989)<sup>5</sup> e estafilococos resistentes à meticilina (MRS) foram investigados pela detecção do gene *mecA*<sup>3</sup>. Os isolados foram considerados multirresistentes (MDR) quando resistentes a três ou mais classes de antimicrobianos<sup>9</sup>.

A associação entre a resistência fenotípica e as espécies de estafilococos foi avaliada pelo teste Exato de Fisher, utilizando o software GraphPad Prism v.8 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

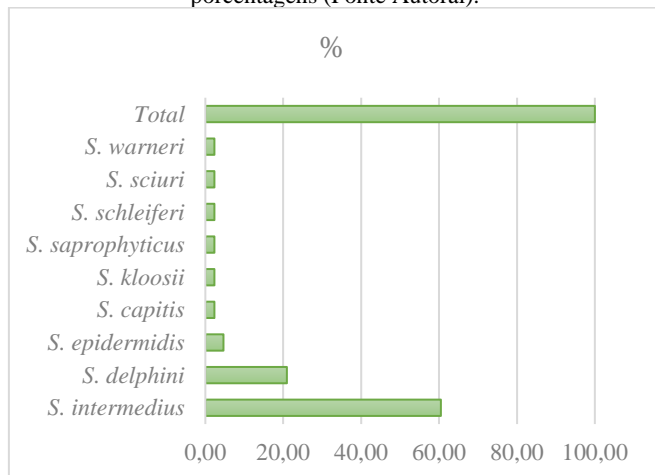
### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os 55 quatis capturados, 43 (78,1%) isolados estafilocócicos foram recuperados de 40 (72,7%) animais. Nove espécies diferentes de estafilococos foram detectadas, com *S. intermedius* (60,4%) e *S. delphini* (20,9%) isolados significativamente com maior frequência do que as outras espécies ( $p < 0,001$ ) (Gráfico 1).

# IX Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente

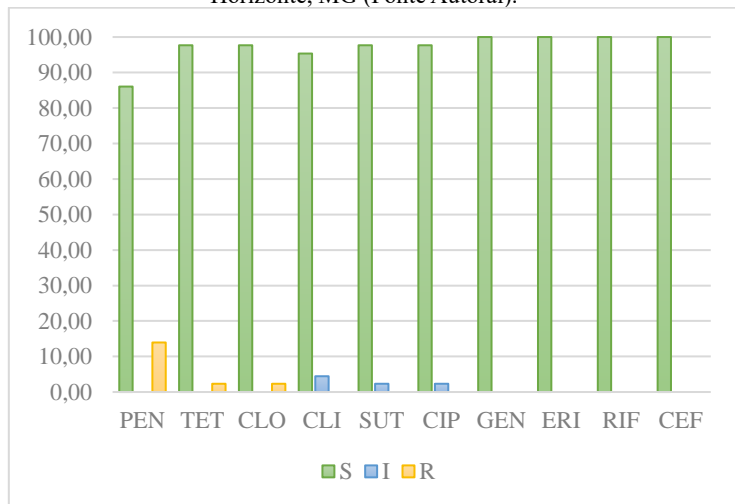


**Gráfico 1:** Espécies de estafilococos detectadas e respectivas porcentagens (Fonte Autoral).



Seis quatis (10,9%) abrigavam estafilococos resistentes a antimicrobianos. Penicilina G teve a maior frequência de resistência (13,9%), seguida por tetraciclina (2,3%) e cloranfenicol (2,3%). A resistência à penicilina G foi significativamente maior do que a resistência aos outros agentes antimicrobianos testados ( $p = 0,0259$ ), exceto para tetraciclina e cloranfenicol ( $p = 0,1096$ ). Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas entre a resistência à tetraciclina e cloranfenicol e a resistência aos outros antimicrobianos. Um isolado de *S. saprophyticus* apresentou resistência à penicilina G, tetraciclina e cloranfenicol, sendo então classificado como MDR. Todos os isolados foram suscetíveis à ciprofloxacina, gentamicina, trimetoprim/sulfametoxazol, eritromicina, clindamicina, rifampicina e cefoxitina e negativos para o gene *mecA* (Gráfico 2).

**Gráfico 2:** Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus* sp. isolados de quatis (*Nasua nasua*) amostrados em parques de Belo Horizonte, MG (Fonte Autoral).



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se que quatis são colonizados principalmente por *S. intermedius* e *S. delphini*. Os estafilococos de quatis parecem ser suscetíveis à maioria das classes de antimicrobianos testados, porém, seis quatis (10,9%) abrigavam estafilococos resistentes a antimicrobianos, sugerindo possível papel desses animais como reservatórios de genes de resistência aos antimicrobianos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 31th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021.
2. MELLMANN, A. *et al.* Sequencing and Staphylococci Identification. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 2, p. 333-336, 2006.
3. MURAKAMI, K. *et al.* Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v.29, p.2240–2244, 1991.
4. Parque Municipal das Mangabeiras, 2022. Disponível em: <https://prefeitura.pbh.gov.br/fundacao-de-parques-e-zoobotanica/informacoes/parques/parque-das-mangabeiras>
5. PITCHER, D.G. *et al.* Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. **Letters in Applied Microbiology**, v.8, p.151–156, 1989.
6. SANTANA, A. J. *et al.* Isolation and antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci recovered from healthy tortoises in Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v.52, n.7, 2022.
7. SASAKI, T. *et al.* Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. **Journal of Clinical Microbiology**, v.48, p.765–769, 2010.
8. SILVA, R.O.S. *et al.* Carriage of *Clostridium difficile* in free-living South American coati (*Nasua nasua*) in Brazil. **Anaerobe**, v.30, p. 99–101, 2014.
9. SWEENEY, M.T. *et al.* Applying definitions for multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to clinically significant livestock and companion animal bacterial pathogens. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.73, p.1460–1463, 2018.
10. WALLER, K.P. *et al.* CNS species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v.152, p.112–116, 2011.
11. WALTHER, B. *et al.* Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. **Veterinary Microbiology**, v.200, p.71–78, 2017.

APOIO:

