

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 13 (11)

November 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/131120201081>

Article link

<http://sea.ufr.edu.br/index.php?journal=SEA&page=article&p=view&path%5B%5D=1081&path%5B%5D=pdf>

Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES, CrossRef, ICI Journals Master List.



Infecção em fratura exposta de Arara-canindé (*Ara ararauna*, L., 1758) causada por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente – Relato de Caso

Fracture exposed in Blue-yellow-macaw (*Ara ararauna*, L., 1758) infected with multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* - Case Report

B. P. Deecken, F. Freitas, K. V. Bassetto, A. G. Strider, B. G. Castro

Universidade Federal de Mato Grosso – Campus Sinop

Author for correspondence: brenda.deecken1@gmail.com

Resumo. Os antimicrobianos são usados para prevenir ou tratar infecções bacterianas, porém a ocorrência da resistência aos antimicrobianos é um dos grandes problemas na medicina humana e veterinária. Pouco se sabe sobre a prevalência de bactérias resistentes aos antimicrobianos associada aos animais selvagens, entretanto as aves são susceptíveis a diversos patógenos bacterianos comuns ao homem. Neste sentido, a *Pseudomonas aeruginosa* possui grande relevância ocasionando infecções quando há redução dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Objetivou-se com este estudo o relato de caso de isolamento de uma cepa multirresistente de *P. aeruginosa* em uma fratura exposta de rádio-ulna em uma arara Canindé. A bactéria *P. aeruginosa* foi identificada com base nas características morfológicas e bioquímicas. Para determinação da suscetibilidade aos antimicrobianos foi utilizado o método Kirby & Bauer e o método de concentração mínima inibitória (CMI). De acordo com os resultados dos testes de sensibilidade antimicrobiana, verificou-se resistência da cepa isolada em antimicrobianos dos grupos aminoglicosídeos, β -lactâmicos, cefalosporinas, sulfonamida e fluorquinolona. Além de se tornar um problema para conservação de populações de animais selvagens, a resistência antimicrobiana pode ter implicações para a Saúde Pública.

Palavras-chave: Antimicrobianos, Testes de Suscetibilidade, Saúde Pública.

Abstract. Antibiotics are used to prevent or treat bacterial infections; however, the emergence of antimicrobial resistance is one of the major problems in human and veterinary medicine. Little is known about the prevalence of bacterial antimicrobial resistant associated with wild animals. Moreover, birds are susceptible to several bacterial pathogens common to man. In this sense, *Pseudomonas aeruginosa* has great relevance, causing infections when the host's defense mechanisms are reduced. The objective of this study was to report a case of isolation of a multidrug-resistant strain of *P. aeruginosa* in an exposed radio-ulna fracture in a Canindé macaw. The *P. aeruginosa* strain was identified based on its morphological, tinctorial and biochemical characteristics. To determine antimicrobial susceptibility, the Kirby & Bauer method and the minimum inhibitory concentration (MIC) method were used. According to the results of the antimicrobial sensitivity tests, resistance of the isolated strain was verified in the following antimicrobials groups of the aminoglycoside, β -lactam groups, cephalosporins, sulfonamide and fluorquinolone. In addition to becoming a problem for the conservation of wild animal populations, antimicrobial resistance can have public health implications.

Keywords: Antimicrobials, Susceptibility Tests, Public health.

Introdução

Os antimicrobianos são usados para prevenir ou tratar infecções bacterianas. Em animais de companhia, são utilizados principalmente no tratamento das infecções de pele, otite externa, infecções respiratórias, infecções do trato urinário, do trato gastrointestinal e na profilaxia cirúrgica e em pós-operatórios (UMBER; BENDER, 2009; SFACIOTTE, 2014).

Contudo, o aparecimento de resistência a

antimicrobianos é um dos grandes problemas na medicina humana e veterinária. A utilização excessiva e inadequada de antibióticos tem propiciado o surgimento de cepas multirresistentes. A resistência antimicrobiana consiste na habilidade de um microrganismo de tolerar a presença de um antibiótico no meio ao qual seria originalmente sensível, tornando os tratamentos convencionais ineficazes (GIBBS et al. 2007, WHO, 2015).

Pouco se sabe sobre a prevalência de

bactérias resistentes aos antimicrobianos associados aos animais selvagens e a ambientes que nunca foram expostos a esses medicamentos (NASCIMENTO et al. 2003; LEVY; MARSHALL 2004). Vários estudos com cepas de bactérias isoladas de aves silvestres têm demonstrado altos índices de resistência a antimicrobianos utilizados na rotina veterinária (DOLEJSKA et al. 2007, GIBBS et al. 2007).

As aves são susceptíveis a diversos patógenos bacterianos comuns ao homem e aos animais domésticos, além de outros microrganismos com potencial patogênico, como protozoários e vírus (BENSKIN et al. 2009). Apesar de muitos desses microrganismos serem considerados oportunistas, tendo por habitat o ambiente ou a microbiota animal, podem apresentar grande potencial patogênico, principalmente na presença de lesões (SMITH, 1993). Segundo Silva (2008) As bactérias Gram-negativas são os agentes mais frequentes nas infecções das aves.

Presente no meio ambiente, *Pseudomonas aeruginosa* é reconhecida como pertencente à microbiota indígena da superfície de plantas, pele do homem e animais, porém sua relevância está em seu papel como patógeno oportunista, ocasionando infecções quando há redução dos mecanismos de defesa do hospedeiro. (MAIA, 2009). A *P. aeruginosa* desperta particular interesse por ser descrita como o bacilo Gram negativo não fermentador mais encontrado nas infecções nosocomiais (VASCONCELOS e CALAZANS, 2006). Nesse sentido, raramente causa infecção num indivíduo imunocompetente, porém é um dos principais agentes de infecção em indivíduos imunossuprimidos (TRABULSI et al. 2008).

De acordo com Neves et al. (2011), a *Pseudomonas aeruginosa* é um dos principais agentes de infecção nosocomial em hospitais brasileiros, onde diversos estudos têm associado sua presença a uma disseminação clonal da espécie.

Na medicina veterinária nacional, o relato de multiresistência em animais já vem sendo observado na literatura. No que diz respeito à *P. aeruginosa*, alguns estudos relatam a baixa sensibilidade antimicrobiana na referida espécie em diversas espécies como pode ser observado nos estudos de Fernandes et al. (2009) e Mello (2014). No entanto, raros são os relatos em espécies silvestres (BENSKIN et al. 2009).

Diante disso, objetivou-se com este estudo o relato de caso de isolamento de uma cepa multirresistente de *P. aeruginosa* em uma fratura exposta de rádio-ulna em uma arara Canindé no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus de Sinop.

Métodos

No dia três de março de 2018 uma amostra de swab oriundo de uma fratura exposta de uma Arara-canindé foi encaminhada para o setor de

Diagnóstico em Sanidade Animal do Hospital Veterinário da UFMT. Foi informado que o paciente havia sido recém resgatado, não possuindo histórico.

A amostra recebida foi repicada em Caldo Brain Heart Infusion (BHI) e ágar MacConkey (MC), incubadas em aerobiose, a 37°C, por 24 horas. Após a incubação e crescimento microbiano, foram observados o tamanho, a cor e a morfologia das colônias que obtiveram crescimento positivo.

A bactéria *P. aeruginosa* foi identificada com base nas características morfológicas e bioquímicas. Para tanto, foram realizados os seguintes testes ou provas bioquímicas: catalase, oxidase, meio SIM (Sulfeto Indol Motilidade), ágar TSI (Tríplice Açúcar Ferro), caldo Vermelho de Metila, caldo Voges-Proskauer, Ágar Citrato de Simmons.

Para determinação da suscetibilidade aos antimicrobianos foi utilizado o método Kirby & Bauer de difusão em Ágar Muller-Hinton segundo os critérios sugeridos pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009).

O isolado bacteriano foi previamente identificado e em seguida transferido para tubo contendo solução salina esterilizada 0,9% para verificação de turbidez segundo a escala de MacFarland 0,5%. Em seguida cada suspensão bacteriana preparada foi semeada em ágar Muller Hinton por meio de swab estéril.

Posteriormente foram colocados os discos de antibióticos selecionados. Os antimicrobianos testados foram: aminoglicosídeos (gentamicina), β -lactâmicos (amoxicilina associado à ácido clavulânico, ampicilina), cefalosporinas (ceftriaxona) fluorquinolonas (norfloxacino, ciprofloxacino), e sulfonamida.

Após incubação das placas a 35° C por 18 horas foi efetuada a leitura dos resultados (Quadro 1) medindo-se, em milímetros, o halo formado ao redor dos discos e interpretando o resultado de acordo com a tabela de padrões de sensibilidade ou resistência pré-estabelecido para cada antibiótico.

Devido a amostra apresentar resistência a todos os antibióticos testados, foi solicitado o envio para outra instituição do exemplar em caldo BHI para realização do teste de sensibilidade antimicrobiana optando pelo método de concentração mínima inibitória (CMI) e possui uma quantidade maior de antibióticos para teste. O resultado (Quadro 2) foi divulgado após três dias.

Durante a espera dos resultados, foi informado pelos veterinários responsáveis a piora no quadro do paciente, a alternativa encontrada foi a realização da amputação do membro afetado como forma de conter a progressão da infecção.

Quadro 1. Resultado de Teste de Sensibilidade Antimicrobiana pelo método de difusão em disco de amostra de *Pseudomonas aeruginosa* isolada de fratura exposta em *Ara ararauna* do Hospital Veterinário da UFMT, Sinop.

| Antibióticos | Discos | Halos de inibição (mm) | Resultados |
|---------------------------------|----------------|------------------------|------------|
| Gentamicina | 10 µg | 0mm | Resistente |
| Ceftriaxona | 30 µg | 4mm | Resistente |
| Amoxicilina e Ácido Clavulânico | 20/10 µg | 0mm | Resistente |
| Ampicilina | 10 µg | 6mm | Resistente |
| Ciprofloxacino | 5 µg | 0mm | Resistente |
| Norfloxacino | 10 µg | 0mm | Resistente |
| Sulfazotrim | 23,75 / 1,25µg | 4mm | Resistente |

Quadro 2. Resultado de Teste de Sensibilidade Antimicrobiana pelo método de concentração mínima inibitória de amostra de *Pseudomonas aeruginosa* isolada de fratura exposta em *Ara ararauna* do Hospital Veterinário da UFMT, Sinop.

| Antimicrobianos | CMI (Concentração Mínima Inibitória) | Resultado |
|-------------------------|--------------------------------------|---------------|
| Amicacina | : <=2 | Sensível |
| Ampicilina | : >=32 | Resistente |
| Ampicilina + Sulbactam | : >=32 | Resistente |
| Cefepime | : 8 | Sensível |
| Cefoxitina | : >=64 | Resistente |
| Ceftazidima | : 4 | Sensível |
| Ceftriaxona | : >=64 | Resistente |
| Cefuroxima | : >=64 | Resistente |
| Cefuroxima axetil | : >=64 | Resistente |
| Ciprofloxacina | : >=4 | Resistente |
| Colistina | : >=0,5 | Sensível |
| Gentamicina | : <=1 | Sensível |
| Imipenem | : 1 | Sensível |
| Meropenem | : 1 | Sensível |
| Piperacilina/Tazobactam | : 32 | Intermediário |
| Tigeciclina | : >=8 | Resistente |

Resultados e discussões

No paciente do presente relato não foi possível determinar uma doença anterior ao trauma sofrido. De acordo com exames radiográficos foi apenas definido que se tratava de uma fratura recente, porém GRANT & OLDS (2007) afirmam que todas as fraturas expostas são contaminadas e tornam-se infectadas se não forem tratadas dentro de seis a oito horas. Culturas bacterianas são indicadas nesses casos, devendo ser realizadas no momento da limpeza definitiva da ferida, após debridaç o e irrigação (JOHNSON, 1999).

Benskin e colaboradores (2009) relatam que estudos envolvendo a microbiota de aves silvestres geralmente são restritos a um pequeno número de animais, sendo que maior ia decorrente de surtos com alta mortalidade, não fornecendo informa es a respeito da prevalência em animais aparentemente sadios e o que o papel dessas aves como vetores de patógenos bacterianos pode acabar sendo subestimado. O isolamento de bactérias resistentes tem sido descrito em animais selvagens, especialmente as aves migratórias, servindo como vetores desses agentes através da intera o com outras aves (BENSKIN et al. 2009).

Houve piora no quadro local e sist mico do paciente, não sendo possível afirmar se a condi es de internação favoreceram o agravamento, Santos (2012) destaca que na Medicina Veterinária há poucos relatos sobre o acometimento ou a morte de

animais como consequência de contamina o do ambiente hospitalar, não sendo identificadas ou documentadas, demonstrando uma menor preocupa o com a insalubridade do ambiente e dos pacientes.

Neste sentido, os protocolos de quarentena são recomenda es quanto aos exames que devem ser realizados nos animais, com o objetivo de detectar doenças ou a presença de agentes que possam ser transmitidos para outros animais e para o homem. Os protocolos de quarentena também determinam o período mínimo que o animal recém-chegado deve permanecer isolado, a fim de reduzir o risco de dissemina o de doenças que eles possam apresentar (Piet , 2008).

Através da amostra enviada foi possível a identifica o da espécie *Pseudomonas aeruginosa*. Em uma pesquisa realizada por Aria (2008) sobre a suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas em feridas traumáticas, de um total de 20 isolados bacterianos com o g nero bacteriano identificado, o grupo predominante foi de bacilos Gram negativos (70,0%). Dentre os g neros, *Pseudomonas* foi o mais frequente (30,0%), seguido por *Proteus* (20,0%), *Staphylococcus* e *Streptococcus* (15,0%). Além disso, o g nero *Pseudomonas* estava relacionado com a maioria das feridas que evoluíram desfavoravelmente.

No teste de sensibilidade dessa amostra, os sete antibióticos testados pelo método de difusão

em disco apresentaram resistência, em um estudo realizado por Souza (2015) todas as amostras de *Pseudomonas spp.* isoladas mostraram-se resistentes à pelo menos seis antimicrobianos. Sendo que uma das amostras isoladas foi resistente à 14 antibióticos.

De acordo com Murry (2003), a antibioticoterapia das infecções causadas por *Pseudomonas spp.* é frustrante, porque as bactérias são tipicamente resistentes a maioria dos antibióticos e o paciente infectado que apresenta as defesas comprometidas é incapaz de potencializar a atividade do antibiótico.

Quatro antibióticos testados (ampicilina, gentamicina, ceftriaxona e ciprofloxacino) no método de disco difusão também foram testados pela concentração mínima inibitória, apenas a gentamicina que apresentou resultado diferente, sendo sensível na CMI. Sobre o antibiograma, a disco difusão é o método mais comumente utilizado nos laboratórios clínicos, pois oferece um resultado qualitativo com baixo custo e relativa rapidez (KONEMAN, 2012).

Porém, essa técnica possui como desvantagens a forma como os halos (gerados pela difusão dos antibióticos) são medidos, pois se utiliza, usualmente, uma régua tradicional, a qual favorece o surgimento de erros de leitura, problemas na comparação com as tabelas padronizadas e dificuldades de interpretação (KONEMAN, 2012).

Entretanto estudos mencionam o método de concentração mínima inibitória, como sendo o mais confiável para avaliar agentes antimicrobianos, por fornecer resultados quantitativos e não ser influenciado pela velocidade de crescimento do microrganismo (OSTROSKY et al., 2008).

Além de se tornar um problema para conservação de populações de animais selvagens, a disseminação de cepas resistentes a antibióticos pode ter implicações para a Saúde Pública (Benskin et al. 2009). Neste sentido, algumas medidas são de suma importância para a diminuição da disseminação da resistência antimicrobiana, tais como: educação dos profissionais da saúde (inclusive o médico veterinário), cultura microbiológica de segurança, isolamento de pacientes infectados, utilização de equipamentos de proteção individual (EPI), desinfecção de superfícies, restrição no uso de antimicrobianos e higienização das mãos (OLIVEIRA e SILVA, 2008).

Conclusões

Pode se concluir com esse trabalho a importância da cultura microbiológica e antibiograma, para determinação dos agentes etiológicos e de suas sensibilidades antibacterianas e assim direcionar o melhor tratamento.

As causas predisponentes e as fontes de infecção devem ser identificadas e, quando possível extintas. Consequentemente, se tratando de um hospital veterinário, porém, várias situações favorecem a seleção destes microrganismos. É

preciso reforçar a necessidade de adesão de medidas de vigilância em saúde envolvendo a fiscalização de profissionais responsáveis pelo manejo de espécies silvestres, uma vez que a manipulação desses animais os expõe a maior contato com agentes com potencial zoonóticos e com microrganismos envolvidos em infecções nosocomiais.

Referências

ANVISA – Metodologia dos testes de sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico. Brasil. 2003.

ARIAS, M.V.B.; BATAGLLIA, L.A.; AIELLO, G.; CARVALHO, T.T.; FREITAS J.C. Identificação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de cães e gatos com feridas traumáticas contaminadas e infectadas. *Semina*, v.29, p. 861-874, 2008.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Suscetibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI Document M100-S21. Pennsylvania: CLSI, v. 31. 2016.

DOLEJSKA M., CIZEK A. & LITERAK I. 2007. High prevalence of antimicrobial-resistant genes and integrons in *Escherichia coli* isolates from black-headed gulls in the Czech Republic. *J. Appl. Microbiol.*

FERNANDES, M. C.; RIBEIRO, M. G.; SIQUEIRA, A. K.; SALERNO, T.; LARA, G. H. B.; LISTONI, F. J. P. Surto de mastite bovina causada por linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistentes aos antimicrobianos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 61, n. 3, p. 745-748, 2009.

FREITAS, A.N.; LUTZ, L.; MACHADO, A.; ZAVASZKI, A.P.; BARTH, A.L. Antibiograma: metodologia e interpretação clínica. In: BARROS, E.; MACHADO, A.; SPRINZ, E. *Antimicrobianos*. Porto Alegre: Artmed, p. 93- 101, 2013.

GIBBS P.S., KASA R., NEWBREY J.L., PETERMANN S.R., WOOLEY R.E., VINSON H.M. & REED W. 2007. Identification, antimicrobial resistance profiles, and virulence of members from the family Enterobacteriaceae from the feces of Yellow-Headed Blackbirds (*Xanthocephalus xanthocephalus*) in North Dakota. *Avian Dis.*

GRANT, G.R.; OLDS, R.B. Tratamento das fraturas expostas. In: SLATTER, D. *Manual de cirurgia de pequenos animais*, 3.ed. Barueri: Manole, v. 2, cap. 127, p. 1793-1798, 2007.

JOHNSON, A.L. Management of open fractures in dogs and cats. *Waltham Focus*, v.9, n.4, p.11-17, 1999.

- KONEMAN, Washington C. Winn Jr. et al. Diagnóstico microbiológico: textos e atlas coloridos. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2012.
- LEVY SM, MARSHALL B. Antibacterial resistance worldwide: cause, challenges and responses. Nature Medicine Supplement. 2004.
- MAIA, A. A., et al. 2009. Resistência antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* isolados de pescado e de cortes e de miúdos de frango. Ciência e Tecnologia de Alimentos.
- MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; JORGENSEN J H, et al. Manual of Clinical Microbiology, 8th Edition, v. 1, p. 719 –725. 2003.
- NASCIMENTO AMA, CURSINO L, GONÇALVES-DORNELAS H, REIS A, CHARTONE-SOUZA E, MARINI MA. Antibiotic-resistant Gram-negative bacteria in birds from the Brazilian Atlantic Forest. The Condor. 2003.
- NEVES, Patrícia R. et al. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 47, n. 4, p. 409-420, 2011.
- OLIVEIRA AC, SILVA RS. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. Rev Eletrônica Enf. 2008.
- OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia [online], v.18, n. 2, p.301-307, 2008.
- PIETÁ, ELÓI et al. Prefeitura de Guarulhos, Secretaria de Meio Ambiente Zoológico de Guarulhos. 2008.
- SANTOS W.G., DINIZ R.C., CARVALHO I.A. & FREITAS P.M.C.F. 2012. Infecção hospitalar em medicina veterinária. Revta Vet. Zootec.
- SFACIOTTE, R.A.P.; VIGNOTO, V.K.C.; WOSIACKI, S.R. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados bacterianos de afecções clínicas do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Maringá. Rev. Ciênc. Vet. Saúde Pública., v. 1, n. 1, p. 029-038, 2014.
- SOUZA A. P. L.; BRASIL J. M.; PIANTA C., GRECELLÉ C. B. Z. Isolamento de *Pseudomonas Spp* em amostras de swabs otológicos de pacientes do Hospital Veterinário Ulbra – Canoas e seu perfil de sensibilidade antimicrobiana. Anais Expoulbra, Canoas, RS, Brasil 2015.
- SOUZA-MELLO, M. R. Detecção da atividade da enzima carbapenemase em Enterobacteriaceae e *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em clínicas veterinárias do Distrito Federal, Brasil. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, XXp. Dissertação de Mestrado.
- SMITH, M.M. Orthopedic infections. In: SLATTER, D. Textbook of small animal surgery. 2.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1993.
- UMBER, J.K.; BENDER, J.B. Pet and antimicrobial resistance. Vet. Clin. North America: Small Animal Pract., v. 39, n. 2, p. 279-92, 2009.
- TRABULSI, LUIZ RICHARD et al. Microbiologia. 5 edição. São Paulo: Atheneu, 2008.