

PESQUISA DOS PRINCIPAIS MICRO-ORGANISMOS MULTIRRESISTENTES E DETECÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA ENVOLVIDOS EM INFECÇÕES HOSPITALARES NO HOSPITAL DE CLÍNICAS VETERINÁRIAS CAV-UDESC

Naiara Dognani Israel¹, Ricardo Antonio Pilegi Sfaiotte², Sandra Maria Ferraz³

¹Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária - CAV- bolsista PROBIC

²Doutorando no programa de pós-graduação Ciência Animal - CAV.

³Orientadora, Departamento de Medicina Veterinária - CAV – sandra.ferraz@udesc.br

Palavras-chave: genes, resistência antimicrobiana, micro-organismos

O objetivo do trabalho foi detectar os principais genes de resistência antimicrobiana envolvidos em infecções hospitalares no Hospital de Clínica Veterinária (HCV) do CAV-UDESC. Entre os principais micro-organismos pesquisados estão os *Staphylococcus* meticilina resistente (MRS), *Enterococcus* vancomicina resistente (VRE), bacilos Gram negativos (BGN) produtores de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) e BGN produtores de carbapenemases e beta-lactamase do tipo ampC. É de extrema importância o mapeamento do perfil de resistência desses micro-organismos, com o intuito de evitar a propagação dos genes de resistência no ambiente, uma vez que estes são responsáveis por inúmeras mortes no mundo todo.

Para atender os objetivos propostos foram coletados *swabs* retais, e no caso de pesquisa de MRS foram coletados *swabs* nasais, de 106 animais no total, sendo 25 gatos e 81 cães, no período de setembro a dezembro de 2017, no Hospital de Clínica Veterinária (HCV) do CAV-UDESC. Os *swabs* foram coletados no momento em que esses animais eram internados no hospital, e então quando recebiam alta. Em animais que ficaram internados no hospital por mais de três dias, foram coletadas mais amostras durante sua internação, totalizando 224 amostras.

Para os micro-organismos isolados que exibiram perfil fenotípico ESBL, a extração genômica de DNA foi realizada de acordo com o protocolo de Doyle et al (1990) com algumas adaptações. Após a extração, foram realizados dois PCR multiplex: um para detectar os genes *BlaTEM*, *BlaSHV* e *BlaOXA-1*, e o outro para identificar o gene *BlaCTX-M*. Os fragmentos amplificados foram submetidos a técnica de eletroforese com gel de agarose 2% (100V, 300mA) por 1h, utilizando GelRed™ e a visualização em transiluminador.

Para os *Enterococcus* vancomicina resistente, a extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Parussolo et al (2019), para identificar os genes que conferem a resistência à vancomicina. Foram realizadas duas técnicas de PCR multiplex, uma para identificar as espécies *E. faecium* e *E. faecalis* e outra para detectar os genes de resistência *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE* e *vanG*. Os primers específicos utilizados foram descritos em estudos prévios (DEPARDIEU, PERICHON e COURVALIN, 2004). Os fragmentos amplificados foram submetidos a técnica de eletroforese com gel de agarose 2% (100V, 300mA) por 1h, utilizando GelRed™ e a visualização em transiluminador.

Para os *Staphylococcus* meticilina resistente, a extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo de Parussolo et al (2019), para detecção do gene que confere resistência aos beta-lactâmicos, que são os genes *blaZ*, *mecA* e *mecC*. Para identificação destes, seguiu-se o protocolo

de Nakadomari et al (2019). Os fragmentos amplificados foram submetidos a técnica de eletroforese com gel de agarose 2% (100V, 300mA) por 1h, utilizando GelRed™ e a visualização em transiluminador.

Para os micro-organismos produtores de carbapenemases e beta-lactamase do tipo *ampC*, a extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo de Parussolo et al (2019). Os isolados sugestivos de produção de carbapenemase foram submetidos a técnicas de multiplex PCR para detecção dos genes GES, IMP, VIM, KPC e OXA-48 segundo Dallene et al. (2010), assim como para detecção do gene SPM segundo Sader et al. (2005) e do gene NDM de acordo com Yong et al., (2009). Além disso, foi realizada a detecção dos genes *ampC* (FOX, MOX, ACC, CMY, DHA, LAT, CIT e EBC) segundo Dallene et al. (2010). Os fragmentos amplificados foram submetidos a técnica de eletroforese com gel de agarose 2% (100V, 300mA) por 1h, utilizando GelRed™ e a visualização em transiluminador.

Em 47 (44,34%) dos 106 animais foi detectada a presença de bactérias produtoras de beta-lactamase de espectro estendido, sendo nove gatos (36%) e 38 cães (46,91%). Das 224 amostras, 73 foram positivas para estes micro-organismos. A caracterização molecular destes micro-organismos revelou que todos eles possuíam o gene *BlaTEM*, sendo que em 23 amostras foi isolado somente este gene, e no restante das amostras, estava combinado com outros genes. As combinações encontradas foram: *BlaTEM* + *BlaOXA-1* em 17 isolados (23,38%); *BlaTEM* + *BlaCTX-M-1* e, *BlaTEM* + *BlaCTX-M-1* + *BlaOXA-1*, ambos em sete isolados (9,59%); *BlaTEM* + *BlaSHV* e, *BlaTEM* + *BlaCTX-M-9*, ambos em seis isolados (8,22%); *BlaTEM* + *BlaCTX-M-9* + *BlaOXA-1* em quatro isolados (5,48%); *BlaTEM* + *BlaSHV* + *BlaCTX-M-1*, *BlaTEM* + *BlaSHV* + *BlaOXA-1* e *BlaTEM* + *BlaSHV* + *BlaCTX-M-1* + *BlaOXA-1* em um isolado (1,37%).

Em 46 (43,39%) dos 106 animais, sendo 32 cães (69,56%) e 14 gatos (30,43%) foram isolados *Enterococcus* vancomicina resistente. Das 224 amostras obtidas, em 59 foi detectada a presença de VRE, sendo que em 31 amostras (52,54%) foi detectada a presença do gene *vanA*, em 14 amostras (23,73%) a presença do gene *vanB*, em 12 amostras (20,34%) a presença do gene *vanC* e em duas amostras (3,39%) a presença do gene *vanE*.

Em 51 (48,11%) dos 106 animais, foi isolado *Staphylococcus* meticilina resistente, sendo 40 cães (49,38%) e 11 (44%) gatos. Das 224 amostras, 76 foram positivas para MRS, sendo que em todas (100%) foi identificado o gene *mecA*, em 72 (94,74%) o gene *blaZ* e nenhum isolado apresentou o gene *mecC*.

Em 14 (13,20%) dos 106 animais, foram isolados microrganismos produtores de carbapenemases e/ou beta-lactamase do tipo *ampC*, sendo 13 cães e um gato. Em nove (64,28%) animais foi isolado o gene NDM, os genes SPM, KPC e OXA-48 foram isolados em três animais (21,42%), porém não necessariamente nos mesmos animais.

Este estudo detectou os principais genes envolvidos na resistência antimicrobiana dos animais do hospital veterinário. A falta de uma comissão de controle de infecção hospitalar (CCIH) e a falta de conhecimento a respeito desses micro-organismos na medicina veterinária, principalmente no Brasil, dificultam a detecção desses patógenos e facilitam a sua disseminação para a comunidade de forma silenciosa.