

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO**

LUIZ ANTONIO ECKHARDT DE PONTES

**PREVALÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS* SPP. RESISTENTES A DROGAS EM
HUMANOS, ANIMAIS E AMBIENTE HOSPITALAR, EM COMUNIDADES CARENTES
DE CAMPOS DOS GOYTACAZES/ RJ, NO PERÍODO DE 2006-2008**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES
FEVEREIRO / 2009**

LUIZ ANTONIO ECKHARDT DE PONTES

**PREVALÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS* SPP. RESISTENTES A DROGAS EM
HUMANOS, ANIMAIS E AMBIENTE HOSPITALAR, EM COMUNIDADES CARENTES
DE CAMPOS DOS GOYTACAZES/ RJ, NO PERÍODO DE 2006-2008**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal na área de concentração de Sanidade animal.

ORIENTADOR – OLNEY VIEIRA DA MOTTA

**CAMPOS DOS GOYTACAZES
Fevereiro / 2009**

LUIZ ANTONIO ECKHARDT DE PONTES

**PREVALÊNCIA DE STAPHYLOCOCCUS SPP. RESISTENTES A DROGAS EM
HUMANOS, ANIMAIS E AMBIENTE HOSPITALAR, EM COMUNIDADES CARENTES
DE CAMPOS DOS GOYTACAZES/ RJ, NO PERÍODO DE 2006-2008**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal na área de concentração de Sanidade animal.

Aprovada em 11 de fevereiro de 2009

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dirley Molinari Donatele (Doutor, Produção Animal) - UFES

Prof. Enrique Medina Acosta (PhD, Parasitologia Médica e Molecular) - UENF

Prof. Carlos Eurico Pires Ferreira Travassos (Doutor, Ciências - Microbiologia) - UENF

Prof. Olney Vieira da Motta (Doutor, Biociências e Biotecnologia) - UENF
(Orientador)

À

Minha mãe, Janet Borges Eckhardt (In Memoriam), que sempre me apoiou em tudo;

Ao

Grande amigo que se foi no início de tudo, Guilherme Vasconcelos Manhães (In Memoriam).

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro (UENF), ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, pelo oferecimento deste curso, a CAPES e a Proex-UENF pelo fornecimento das Bolsas;

Ao meu orientador Olney Vieira da Motta pela paciência e ensinamentos;

À Banca examinadora pelas observações e correções pertinentes na melhoria da dissertação;

À minha mãe, Janet, que esteve sempre ao meu lado, mas agora somente olhará por mim;

Aos meus irmãos, Jorge Luiz, Anna Paula e Juliana que sempre me apoiaram durante toda a minha vida;

À minha namorada e companheira Melissa Paes;

Ao meu Padrasto, pelo orgulho de seguir sua profissão;

Às técnicas, Maria de Lurdes e Gina, e toda a equipe pertencente aos laboratórios de Sanidade Animal, pelos serviços prestados, carinho e companheirismo;

Aos alunos de graduação e Pós-graduação, Sheyla Lessa, Paula Santoro, João Gatto, Cristina Ferreira, Giseli Ferreira, Fernando Tobias, André Mauricio, Felipp Silveira, que sempre contribuíram positivamente durante o período do mestrado;

À Tia Rita Paes que vem me apoiando desde a época da graduação;

A todos os meus amigos, que me deram muitos momentos de alegria e que me ajudaram durante todo o período do curso;

À minha sogra Sylvia que sempre me apoiou e me apóia ainda mais hoje;

Ao querido amigo Glauco Venâncio que mesmo distante (EUA) me passa forças para continuar crescendo;

Ao meu pai, Luiz Antonio Soares de Pontes pela ajuda e todo o apoio;

Ao grande professor Júlio Cesar Paladino pelos ensinamentos e pelo orgulho da carreira de docência, que demonstrava na época do antigo Segundo Grau (1996);

Muito Obrigado a todos!

EPÍGRAFE

“A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo como seus animais são tratados”

M. Gandhi.

RESUMO

As zoonoses podem representar um grande risco a população humana, sendo assim, foi realizado um estudo epidemiológico dos *Staphylococcus* spp. de animais e pessoas, circulantes em quatro comunidades carentes do município de Campos dos Goytacazes/RJ, de ambiente hospitalar que atende a duas destas comunidades e avaliar a resistência frente a 13 drogas testadas. Foram coletados suabes estéreis da cavidade auricular de animais de companhia, sadios ou não, e de animais de produção, suabes da cavidade oral de aves e suabes da cavidade nasal de residentes nas comunidades investigadas. Coletaram-se também amostras em pontos críticos do ambiente hospitalar por meio de suabes. Análises bioquímicas foram realizadas na identificação das amostras. Os padrões de resistência e susceptibilidade a 13 antibacterianos padronizados para as espécies Gram-positivas foram estudados em meio sólido. Para a identificação de cepas de estafilococos produtoras de toxinas de origem hospitalar foi empregada a metodologia de membrana sobre agar detectada por imunodifusão em agar nobre. A prevalência de cepas resistentes, sensíveis e intermediárias de cada comunidade, frente aos antibióticos testados e a divisão por faixa etária de indivíduos colonizados por isolados coagulase-positiva foram comparadas pelo teste de χ^2 a 5% de probabilidade. Foram identificados 284 isolados de *Staphylococcus* spp., entre os anos de 2006 a 2008 no município de Campos dos Goytacazes. Houve prevalência de estafilococos coagulase positiva, *S. intermedius* e *S. aureus* nos animais, seres humanos e no ambiente hospitalar, sendo observado um alto índice de resistência para os beta-lactâmicos penicilina, ampicilina e amoxicilina. A presença de *Staphylococcus* enterotoxigênicos no ambiente hospitalar reflete o grau de periculosidade a que pacientes estão submetidos. A multirresistência a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. sugere um fator de risco às pessoas; e a possibilidade às zoonoses causadas por bactérias do gênero *Staphylococcus* deve ser considerada em todas as comunidades envolvidas.

Palavras-chave: Zoonose, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, resistência antimicrobiana, comunidades carentes.

ABSTRACT

Zoonosis may represent a great risk factor for society in general. An epidemiological survey was performed of *Staphylococcus* spp. from animals and people, circulating in four and from hospital environment from poor communities of Campos dos Goytacazes city, and assessed the bacterial resistance profile toward 13 drugs. Were collected swabs from cavity headset of pets healthy or not, and ear cavity of farm animals, swabs of the oral cavity of birds and nasal cavity swabs of human beings living in the poor communities enrolled. Samples from hospital environment were swabbed at critical sites. Biochemical analyses and hemolytic pattern of the isolates were performed. The resistance and susceptibility profiles toward 13 standard antibacterial drugs for Gram-positive species were investigated in solid media. For the identification of toxigenic staphylococci from specimens of hospital sites was used the membrane over agar and immunodiffusion in agar noble methods. The prevalence of resistant, intermediate and sensitive strains, toward antibiotics by age group of individual colonized by coagulase-positive strains was compared by χ^2 test 5% probability. The results showed 284 strains of *Staphylococcus* spp. with a prevalence of coagulase-positive, *S. aureus* and *S. intermedius* in animals, humans and hospital environment. A consistent rate of resistance to beta-lactamic drugs penicillin, ampicillin and amoxicillin was observed. Four strains of toxigenic staphylococci in the hospital sites reflect the potential harm that patients are submitted. The drug multi resistance profile of *Staphylococcus* spp. strains suggests a risk factor for people; and zoonoses caused by staphylococci may be considered in all communities enrolled.

Key-words: Zoonosis, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, antimicrobial resistance, poor communities.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Comunidade de Parque Santuário, distrito de Travessão, Campos dos Goytacazes/RJ.....43
- Figura 2** – Comunidade de Arraial, distrito de Travessão, Campos dos Goytacazes/RJ.....43
- Figura 3** – Comunidade Matadouro, Região central do município de Campos dos Goytacazes/RJ.....44
- Figura 4** – Comunidade de Lagoa de Cima, às margens da lagoa, município de Campos dos Goytacazes/RJ.....44
- Figura 5** – Coleta de amostras humanas de animais em comunidades carentes de Campos dos Goytacazes/RJ.....45
- Figura 6** – Esquema do método de Ouchterlony (imuno-difusão), para detecção de toxinas.....51
- Figura 7** – Método de identificação de *S. aureus* e *S. intermedius* isolados de animais, do ambiente e de seres humanos, pelo uso de provas bioquímicas.....54
- Figura 8** – Avaliação de *Staphylococcus* spp. coagulases positivas e negativas pela faixa etária das amostras das pessoas das 04 comunidades coletadas.....60
- Figura 9** – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de seres humanos na comunidade de Arraial.....62

Figura 10 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva de seres humanos na comunidade de Arraial.....	62
Figura 11 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. de seres humanos na comunidade de Lagoa de Cima.....	63
Figura 12 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva de seres humanos na comunidade de Lagoa de Cima.....	63
Figura 13 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. de seres humanos na comunidade de Parque Santuário.....	64
Figura 14 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva de seres humanos na comunidade de Parque Santuário.....	64
Figura 15 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. de seres humanos na comunidade Matadouro.....	65
Figura 16 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. de seres humanos na comunidade Matadouro.....	65
Figura 17 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. de animais na comunidade de Arraial.....	68
Figura 18 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. de animais na comunidade de Lagoa de Cima.....	69
Figura 19 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. de animais na comunidade de Parque Santuário.....	69

Figura 20 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de animais na comunidade Matadouro.....70

Figura 21 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de amostras ambientais.....72

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Surtos de intoxicações alimentares causadas por *S. aureus* envolvendo leite e produtos lácteos em diferentes países.....25
- Tabela 2** – Número de isolados de *Staphylococcus* spp. das espécies de animais nas quatro comunidades estudadas.....56
- Tabela 3** – Isolados de estafilococos identificados em animais nas quatro comunidades estudadas no município de Campos dos Goytacazes, RJ.....56
- Tabela 4** – Isolados de estafilococos identificados nos seres humanos nas quatro comunidades estudadas no município de Campos dos Goytacazes, RJ.....58
- Tabela 5** – Distribuição de *S. aureus* e *S. intermedius*, por faixa etária de indivíduos investigados, na comunidade de Parque Santuário – Travessão, distrito de Campos dos Goytacazes/RJ.....58
- Tabela 6** – Distribuição de *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus*, por faixa etária na comunidade de Arraial – Travessão, distrito de Campos dos Goytacazes/RJ.....59
- Tabela 7** – Distribuição de *S. aureus* e *S. intermedius*, por faixa etária na comunidade Matadouro, região central do município de Campos dos Goytacazes/RJ.....59
- Tabela 8** – Distribuição de *S. aureus* e *S. intermedius*, por faixa etária na comunidade de Lagoa de Cima, distrito de Campos dos Goytacazes/RJ.....59

ABREVIATURAS E SIGLAS

AMP – Ampicilina

AMO – Amoxicilina

CA-MRSA – *Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*

CFL – Cefalotina

CFO – Cefoxitina

CLI - Clindamicina

DNA – Deoxyribonucleic acid

ECN – Estafilococos coagulase negativo

ECP– Estafilococos coagulase positive

EEs – *Enterotoxinas Estafilocócicas*

ENO - Enrofloxacin

ERI - Eritromicina

EUA – Estados Unidos da América

FC – Fixação de complemento

FDA – *Food and Drug Administration*

FRC – Fator de reação com a coagulase

GEN – Gentamicina

HA-MRSA – *Healthcare-Associated Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

HIV – Human Immunodeficiency Vírus

IgG – Imunoglobulina G

mecA – Gene que codifica resistência à metilina/oxacilina

MRSA – *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

MSSA – *Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus*

MSA – *Membrana sobre Agar*

OXA - Oxacilina

PBP – *Penicillin-Binding Protein*

PCA – *Polissacarídeo capsular adesivo*

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

PEN - Penicilina

PTSAgs – *Pyrogenic Toxin Superantigens*

PVL – *Panton-Valentine Leucocidin*

SARO - *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina

SCCmec – *Staphylococcal Cassette Chromosome mec*

SUT – Sulfazotril (Sulfa + Trimetoprim)

TET - Tetraciclina

TSST-1 – *Toxic Shock Syndrome Toxin-1*

UTI – Unidade de Tratamento Intensivo

VAN – Vancomicina

VP – Prova de Voges-Proskauer

VRSA – *Vancomycin resistance Staphylococcus aureus*

VISA – *Vancomycin-Intermediate Staphylococcus aureus*

SUMÁRIO

RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS	XII
ABREVIATURAS E SIGLAS	XIII
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA	18
2.1. O Gênero <i>Staphylococcus</i>	18
2.2. Prova da Coagulase.....	19
2.3. <i>Staphylococcus</i> Coagulase Negativa.....	20
2.4. <i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva.....	22
2.5. Intoxicação Alimentar Estafilocócica.....	24
2.6. Caráter Zoonótico de Bactérias do Gênero <i>Staphylococcus</i>	26
2.7. Perfil de Resistência a Antibióticos.....	29
2.7.1. A Importância da Resistência à Oxacilina.....	33
2.7.2. Agente Antimicrobiano para <i>Staphylococcus</i> Resistentes a Vancomicina e Oxacilina.....	35
2.7.3. <i>Staphylococcus</i> Associados a Comunidades (CA-MRSA).....	35
2.8. Toxinas Estafilocócicas.....	38
3. OBJETIVOS	41
4. MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1. Localidades Estudadas.....	42
4.2. Colheita de Amostras.....	45
4.3. Isolamento e identificação <i>Staphylococcus</i> spp.....	46
4.4. Análise Bioquímica.....	46
4.4.1. Fermentação de manitol.....	47
4.4.2. Teste de catalase.....	47
4.4.3. Teste de produção de coagulase.....	47

4.4.4. Teste de oxidase.....	48
4.4.5. Teste de DNase.....	48
4.4.6. Atividade hemolítica.....	48
4.4.7. Prova de Voges-Proskauer (VP).....	48
4.4.8. β -galactosidase.....	49
4.4.9. Resistência a novobiocina.....	49
4.4.10. Fermentação de ribose.....	49
4.5 Antibiograma.....	49
4.6. Teste de Produção de Toxinas.....	50
4.6.1. Membrana sobre Agar (MSA).....	50
4.6.2. Imunodifusão de Toxinas em Agar.....	50
4.7. Análise Estatística.....	50
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
5.1. Identificações das cepas.....	53
5.2. Distribuição de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva por Faixa Etária de seres humanos.....	58
5.3. Perfil de Resistência a Antibióticos dos seres humanos nas comunidades estudadas.....	62
5.4. Perfil de Resistência a Antibióticos dos animais nas comunidades estudadas.....	68
5.5. Perfil de Resistência a Antibióticos de <i>Staphylococcus</i> spp. isolados do Hospital de Travessão.....	72
5.6. Enterotoxinas Estafilocócicas em <i>S. aureus</i> e <i>S. intermedius</i>	73
6. CONCLUSÕES.....	75
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
ANEXOS.....	99

1 - INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são residentes naturais da pele e de mucosas dos seres humanos e dos animais. No entanto muitas espécies podem se tornar patógenos oportunistas causando doenças graves na pele, em cavidades e em tecidos moles do corpo. São responsáveis por intoxicações alimentares que ocorrem logo após a ingestão das enterotoxinas, pré-formadas nos alimentos como resultado da multiplicação celular de linhagens de *Staphylococcus* spp. Embora os *Staphylococcus* coagulase-negativa estejam recebendo renovada atenção no que se refere à sua importância médica, são os *Staphylococcus* coagulase-positiva, os agentes patogênicos de maior destaque em medicina veterinária.

Devido ao fator de risco à saúde pública, representado pela presença dos *Staphylococcus* spp. nos alimentos, foi estabelecido, em diversos países, a obrigatoriedade de sua identificação e pesquisa nos alimentos com ênfase nos derivados de leite, como parte das ações de fiscalização sanitária dos órgãos públicos competentes, para evitar a proliferação destes agentes causadores de enfermidades.

Os estafilococos podem ser transmitidos diretamente dos animais para os seres humanos. A hipótese sobre a existência de diferenças no grau de colonização de estafilococos em humanos em função do seu grau de contato com animais pode auxiliar nos estudos e no direcionamento de práticas educativas sobre os possíveis riscos inerentes a tais hábitos.

O trabalho teve como objetivo identificar isolados de *Staphylococcus* spp. presentes na região de Campos dos Goytacazes, em quatro comunidades carentes do município e no hospital na proximidade de duas destas comunidades, localizado na região periurbana do município, Distrito de Travessão, visando o isolamento destes agentes, utilizando-se técnicas bioquímicas e o estudo do perfil de sensibilidade aos antibióticos testados na rotina Laboratorial. O isolamento destas bactérias nas amostras, coletadas de animais e humanos, sugere a circulação destas bactérias no ambiente de estudo.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O GÊNERO *Staphylococcus*

Segundo o *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (1986), a família *Micrococcaceae* é composta por quatro gêneros: *Planococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus* e *Staphylococcus*. Estudos genéticos têm indicado que o gênero *Staphylococcus* está filogeneticamente mais próximo dos gêneros *Bacillus*, *Lactobacillus* e *Streptococcus* do que dos gêneros *Micrococcus* ou *Stomatococcus* (BASCOMB e MANAFI, 1998).

Este gênero bacteriano foi observado pela primeira vez em 1878 por Robert Koch, sendo em 1879 cultivado em meio líquido por Louis Pasteur (PASTEUR, 1880 apud KEIM, 2005). Em 1881 estas bactérias foram identificadas, por Alexander Ogston, introduzindo a palavra "*Staphylococcus*" para designar os microrganismos de um grande número de doenças piogênicas. No entanto, foi Anton Julius Friedrich Rosenbach que, em 1884, estudou os estafilococos, obtendo-os em culturas puras, adotando o nome no gênero *Staphylococcus* proposto inicialmente por Ogston, e foi o primeiro a fazer uma descrição taxonômica, dividindo-o, com base na presença de pigmento nas colônias, em duas espécies: *Staphylococcus pyogenes aureus* e *Staphylococcus pyogenes albus* (TOPLEY e WILSON, 1976).

A descrição de bactérias do gênero *Staphylococcus* (do grego "*staphyle*" = cacho de uvas, e "*cocos*" = grão) foi realizada por Ogston em 1880, que relatou *coccus* em formato de cacho de uva (BAIRD-PARKER, 1990).

O gênero *Staphylococcus* é o mais importante membro da família *Staphylococcaceae*, atualmente constituído de 38 espécies e 24 subespécies, sendo o *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* a espécie mais conhecida (GARRITY et al., 2001), descrita, ubíqua no ambiente, presente em vários tipos de amostras (ar, poeira, esgoto, água), em superfícies ambientais, humanas e animais. Apresenta-se na forma de cocos Gram-positivos, possui metabolismo anaeróbio facultativo, sendo produtora de catalase, com melhor crescimento em temperaturas entre 35 e 37°C e pH entre 6,0 e

7,0. Seu diâmetro varia entre 0,5 e 1,5 μm , sendo imóvel e não formador de esporos (FRANCO e LANDGRAF, 2002; MAIJALA et al., 2003).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* secretam várias enzimas e toxinas responsáveis por causar diversas patologias, tanto em humanos quanto em animais. Segundo Novak (1998), podem ser divididas em infecções e em doenças causadas por toxinas. As infecções podem ser localizadas, como no caso de pústulas, furúnculos e impetigos, ou processos mais extensos e graves, como infecção pós-cirúrgica, osteomielite, pneumonia, endocardite, meningite, ou disseminadas como bacteremia e septicemia (FURUYA e LOWY, 2006). As doenças causadas por toxinas também apresentam amplo espectro de manifestações clínicas, como celulite, síndrome da pele escaldada, síndrome do choque tóxico e intoxicação alimentar (ARBUTHNOTT et al., 1990; CORBELLA et al., 1997; RAPINI et al., 2005).

Dentre o gênero *Staphylococcus* as espécies e subespécies, que se destacam com potencial de importância clínica, destacam-se *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi* subespécie *schleiferi*, *S. saprophyticus*, *S. intermedius* e *S. hyicus*. *Staphylococcus aureus* é a espécie de maior importância seguida por *Staphylococcus epidermidis*, em isolados de amostras clínicas (BANNERMAN, 2003).

Nas tabelas 1 e 2 visualizam as espécies e subespécies do gênero *Staphylococcus*.

2.2. PROVA DA COAGULASE

Tradicionalmente, os estafilococos são divididos em duas categorias: coagulase-negativo e coagulase-positivo. Esta divisão baseia-se na produção de coagulase, enzima capaz de coagular o plasma de coelho e que consiste em um indicador de patogenicidade entre estafilococos; as espécies coagulase-negativas têm merecido atenção especial, devido à emergência de cepas resistentes a múltiplos antibióticos (KONEMAM et al., 2002).

A prova da coagulase é decisiva na identificação do *S. aureus*, e pode ser feita em lâmina ou em microtubo. A maioria das cepas de *S. aureus* secreta uma coagulase única ou “fator de agregação”, na superfície da parede celular. Esse fator reage diretamente com o fibrinogênio presente no plasma e produz rápida aglutinação das

células bacterianas. Esta prova pode ser executada com microrganismos provenientes do crescimento em agar sangue ou outros meios nutritivos não seletivos, mas não deve ser realizada a partir de meios com elevado conteúdo em sais (agar-manitol-salgado), porque o alto teor em sais, neste caso 7,5%, induz aglutinação espontânea das células. Qualquer cepa negativa em lâmina deve ser confirmada com a prova em tubo, pois existem cepas deficientes em fator de aglutinação e usualmente produzem coagulase livre (KONEMAN et al., 2001).

Na prova em tubo, a coagulase estafilocócica detectada é secretada extracelularmente e reage com uma substância presente no plasma denominada de “fator de reação com a coagulase” (FRC), para formar um complexo que, por sua vez, reage com o fibrinogênio, formando fibrina. As provas que são consideradas negativas após quatro horas de incubação a 35°C, devem ser mantidas em temperatura ambiente e lidas novamente após 24 horas, pois estas cepas podem produzir fibrinolisinases por incubação prolongada a 35°C, o que causa a dissolução do coágulo, durante o período de incubação (KONEMAN et al., 2001).

São raras as cepas de *S. aureus* que podem ser coagulase-negativas e alguns isolados de origem animal como, por exemplo, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. delphini* e *S. schleiferi* subesp. *coagulans* que podem ser negativos à prova de coagulase em tubo (KONEMAN et al., 2001). Esses isolados também produzem DNAses termoestáveis e podem ser confundidos com *S. aureus*. Estas cepas podem ser diferenciadas do *S. aureus* pela ausência da produção de ácidos a partir de maltose, lactose, manitol, sacarose e turanose. A prova da coagulase em tubos ainda é um procedimento de referência na identificação do *S. aureus* (KONEMAN et al., 2001).

2.3. *Staphylococcus* COAGULASE-NEGATIVO.

Durante as duas últimas décadas, estafilococos coagulase-negativo (ECN) foram reconhecidos como importantes agentes de infecções humanas e animais (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*) (GEARY et al., 1997; MURAOKA et al., 2002). Entre os ECN, *S. epidermidis* é o organismo mais freqüentemente isolado, sendo responsável por 50 a 80% das infecções (ARCHER et al., 1995). Os tipos de infecções associadas ao *S. epidermidis* são bastante variadas e incluem bacteremias, infecção de

válvulas cardíacas, infecção de próteses de válvulas cardíacas, osteomielites, piodartrites, peritonites durante processos de hemodiálises ambulatoriais, mediastinites, prostatites, infecção de marca-passos permanentes, cateteres intravasculares, líquido cefalorraquidiano, uma grande variedade de aparelhos ortopédicos e infecções do trato urinário entre outras (BANNERMAN, 2003).

Estudos, utilizando microscopia eletrônica e exames imunológicos de cepas de *S. epidermidis*, isolados de processos infecciosos, têm mostrado que esta bactéria produz na superfície celular e extracelular, macromoléculas que permitem a adesão do microrganismo a substratos. A aderência de algumas cepas de *S. epidermidis* a biomateriais é mediada por um polissacarídeo capsular adesivo (PCA) e esta capacidade pode explicar a relação entre a infecção por este organismo e a implantação de próteses e utilização de cateteres. A patogênese da infecção por *S. epidermidis*, aparentemente, envolve interação específica com vários componentes do soro e tecido do hospedeiro. Interações com proteínas do tecido conjuntivo do hospedeiro (fibronectinas e vitronectinas) provavelmente estão entre os passos iniciais para colonização do tecido e estabelecimento da infecção na ausência de corpos estranhos – cateteres e similares (BRITO et al., 2007). O mais importante fator de patogenicidade em *S. epidermidis* é a formação de biofilmes relacionados a dispositivos médicos (VUONG et al., 2000). Em associação com sepse em feridas de pacientes imunocomprometidos e sepse hospitalar neonatal. Infecções neonatais são raramente fatais, mas causam morbidade significativa, especialmente entre neonatos de baixo peso (< 1500 g) (ISAACS, 2003).

Há uma necessidade constante de acesso venoso de longa duração no tratamento de neonatos críticos. Como o cateter venoso periférico, que é indicado somente por um curto período de tempo, o cateter venoso central é usado preferencialmente em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (LEE et al., 2000; BRITO et al., 2007). Segundo os mesmos autores alguns outros determinantes poderiam contribuir também para a virulência de *S. epidermidis*, estes fatores incluiriam proteases, delta-toxina, lipases, e componentes bacterianos desconhecidos. As características físico-químicas do biofilme conferem às bactérias que o produzem

resistência aos antimicrobianos, desinfetantes e germicidas (DONLAN e COSTERTON, 2002).

A localização de *S. epidermidis* nos diferentes sítios anatômicos pode estar envolvida em processos patológicos no hospedeiro. Análises de amostras provenientes de regiões, como trato respiratório, trato geniturinário, pele, trato gastrintestinal, ouvido e olho permitem inferir que estes microrganismos são comumente encontrados em amostras clínicas e quando presentes podem estar envolvidos na ocorrência de doenças (BANNERMAN, 2003). Outros ECN, como *S. saprophyticus*, podem causar cistite aguda ou pielonefrite, principalmente em mulheres jovens. *S. haemolyticus* infectam válvulas cardíacas e causam septicemias e peritonites, além de infecções nas articulações, feridas, ossos e órgãos do trato urinário. *S. hominis* causam endocardites, peritonites, septicemias e artrites. *S. warneri* causam osteomielite vertebral, infecções de válvulas cardíacas e infecções do trato urinário; já *S. simulans* podem causar osteomielite crônica e pioartrites (LOW et al., 1992; ARCHER, 1995; BANNERMAN, 2003).

Segundo CUNHA et al. (2002), a importância, como patógeno dos ECN foi verificada em crianças prematuras na Unidade Neonatal. As crianças foram submetidas a dois ou mais procedimentos invasivos, incluindo o uso de cateter, nutrição parenteral e ventilação mecânica. A maioria dos recém-nascidos, com infecção por ECN, apresentou fatores predisponentes importantes para a instalação do processo infeccioso, tais como o peso ao nascimento abaixo de 1500g, a não remoção de corpo estranho e a antibioticoterapia prévia.

2.4. *Staphylococcus* COAGULASE-POSITIVOS

Várias espécies de *Staphylococcus*, como *S. aureus*, produzem coagulase livre e esta pode ser detectada pelo teste de coagulase em tubo. Entre as espécies estão *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. chleiferi subsp. coagulans*, *S. delphini* (BERGEYS, 1986). Entretanto, *S. aureus* é a espécie coagulase-positiva, freqüentemente isolada em humanos. O *S. aureus* está associado a doenças em humanos, é a espécie mais virulenta e mais conhecida do gênero e, hoje, atua como o principal patógeno causador

de infecções tanto na comunidade (BANCROFT, 2007) como no ambiente hospitalar (HOTA et al., 2007).

Os *S. aureus* podem estar presentes na pele e mucosas de indivíduos sadios, entretanto, sob condições apropriadas podem ser a causa de infecções oportunistas. Segundo Konemam (2002), estas condições estão relacionadas à debilidade do sistema imunológico e outras situações, incluindo: problemas no mecanismo de fagocitose; injúrias da pele; infecções por outros agentes (vírus); doenças crônicas; alcoolismo; administração de antimicrobianos como medida profilática ou terapêutica e presença de corpos estranhos no organismo (suturas, dispositivos protéticos).

Nestas circunstâncias, *S. aureus* pode causar uma variedade de processos infecciosos, desde infecções de pele, relativamente, benignas (foliculite, impetigo, furúnculos) até infecções profundas de caráter grave. Este microrganismo é isolado, freqüentemente, em incisões cirúrgicas, as quais podem funcionar como foco para o desenvolvimento de infecções sistêmicas. A ocorrência de endocardites, osteomielites, meningite e formação de abscessos metastáticos em vários órgãos, após bacteremia por *S. aureus* é comumente relatado. Muitas infecções causadas por esta bactéria ocorrem como complicações de procedimentos invasivos comuns na odontologia moderna (KONEMAN et al., 1997; LANCELOTI, 2006).

O principal mecanismo de defesa do hospedeiro em relação a uma infecção estafilocócica é representado pela fagocitose, pois os estafilococos são bactérias tipicamente extracelulares. Os fatores de virulência produzidos por este microrganismo interferem principalmente neste mecanismo de defesa e promovem aderência da bactéria às células do hospedeiro, possibilitando o processo de colonização (ARCHER, 1998).

A parede celular do *S. aureus* contém a proteína A, que tem habilidade de ligar-se à região FC das moléculas de imunoglobulina G (IgG). A proteína A funciona como um fator de virulência por interferir com a opsonização e desencadeamento da reação de hipersensibilidade dos tipos imediata e tardia (GRAZIANO e GRAZIANO, 2000; BLACK, 2002).

Os próprios constituintes da parede celular de *S. aureus* (peptidoglicano e ácido teicóico) apresentam atividades biológicas que contribuem para sua virulência, além de

conferirem rigidez à parede celular. Estas atividades incluem habilidade para ativar o sistema complemento e inibição da quimiotaxia de células inflamatórias (MADIGAN et al., 1997).

2.5. INTOXICAÇÃO ALIMENTAR ESTAFILOCÓCICA

Franco e Landgraff (1996) definem as intoxicações alimentares como doenças de origem alimentar causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-elaboradas nestes alimentos. Estas toxinas são produzidas durante a proliferação dos microrganismos patogênicos, presentes nos alimentos. Neste grupo, enquadram-se *S. aureus*, *Clostridium botulinum* e *Bacillus cereus*. Segundo Baird-Parker (1990), desde 1930, tem-se demonstrado que *S. aureus* são comuns e largamente difundidos nas intoxicações alimentares.

As exotoxinas produzidas no interior de algumas bactérias Gram-positivas, decorrentes da multiplicação e metabolismo dos microrganismos, e liberadas na corrente sangüínea. Classicamente são agrupadas em três tipos, de acordo com seu modo de ação: citotoxinas, que destroem as células do hospedeiro ou afetam suas funções; neurotoxinas, que interferem com a transmissão normal de impulsos nervosos; e enterotoxinas, que afetam as células que revestem o trato gastrointestinal. As endotoxinas correspondem à porção externa da parede celular (lipopolissacarídeos) das bactérias Gram-negativas, que são liberadas após a morte bacteriana em decorrência da lise da parede celular (TORTORA et al., 2002).

Os *Staphylococcus* spp. são importantes causadores de intoxicações e toxinfecções alimentares. Em geral, estas intoxicações ocorrem devido à ingestão de enterotoxinas produzidas por estes agentes nos alimentos (LIM et al., 2004). As principais fontes causadoras de intoxicações relatadas na literatura são os alimentos derivados do leite. Produtos lácteos, bem como outros produtos com elevado teor protéico, são substrato para o crescimento de *S. aureus*. Esses produtos estão envolvidos em intoxicações e toxinfecções alimentares devido à ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positivos no leite cru, contaminação cruzada durante o processamento do produto e/ ou possível contaminação cruzada após o processamento (MEAD et. al., 1999) (Tabela 1).

Tabela 1 – Surtos de intoxicações alimentares causadas por *S. aureus* envolvendo leite e produtos lácteos em diferentes países. (Extraída de De BUYSER et al., 2001 e ASAO et al., 2003).

País	Ano	Nº de casos	Alimentos envolvidos	Referencias
Canadá	1980	62	Queijo Curd	TODD et al. 1981
EUA	1981	16	Queijo	ALTEKRUSE et al., 1998
EUA	1985	860	Leite achocolatado	EVENSON et al., 1988
Inglaterra	1983	2	Queijo	BARRET, 1986
Inglaterra	1988	155	Queijo Stilton	MAGUIRE et al., 1991
França	1983	20	Queijo de leite de ovelha	De BUYSER et al., 1985
Escócia	1984	27	Queijo de leite de ovelha	BONE et al., 1985
Escócia	1985	2	Leite de Cabra	SHARP, 1989
Israel	1987	3	Leite de Cabra	GROSS et al., 1988
Brasil	1994	7	Queijo	PEREIRA et al., 1996
Japão	2000	13.420	Leite em pó desnatado	ASAO et al., 2003

Nos EUA o *S. aureus* esteve envolvido em 42 surtos de intoxicação alimentar, com 1413 casos notificados e uma morte ocorrida entre 1993 e 1997 (ASAO et al., 2003). Um dos maiores surtos de intoxicação alimentar, causado por *Staphylococcus aureus*, envolvendo um produto lácteo, ocorreu em Julho de 2000 no Japão com milhares de pessoas envolvidas (ASAO et al., 2003). *S. aureus* enterotoxigénico é um dos principais patógenos responsáveis por casos de intoxicação alimentar no mundo inteiro (DINGES et al., 2000), sendo estimado pelo Center for Disease Control and Prevention (CDC) de Atlanta, como causa de 185.000 casos de intoxicação alimentar nos Estados Unidos anualmente (MEAD et al., 1999). Na década de 90, aproximadamente 1,5 bilhões de dólares foi gasto anualmente nos Estados Unidos por causa das intoxicações estafilocócicas (SU e WONG, 1997).

Em muitos países as enterotoxinas estafilocócicas constituem o segundo ou terceiro mais comum agente causal de intoxicação alimentar (ATANASSOVA et al., 2001). Casos de intoxicação alimentar e prevalência de *S. aureus* em diferentes tipos de alimentos como frutos do mar, leite e derivados, carne e derivados foram relatados principalmente nos países da América, Europa e Ásia Oriental (JORGENSEN et al., 2005).

2.6. CARÁTER ZONÓTICO DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *STAPHYLOCOCCUS*

Recentemente, a transferência de *S. aureus* resistentes e não resistentes para humanos foi comprovada no meio rural entre criadores de suínos (VAN BELKUM, et al., 2008) e o termo *humanose*, referindo-se como a transferência de *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA) de humanos para animais de companhia (MORGAN, 2008).

A própria definição de zoonoses, como “doenças ou infecções que se transmitem naturalmente, entre os animais vertebrados e o homem, ou vice-versa”, já denota a possível e importante participação dos animais na manutenção destas doenças (SILVA, 2004).

A transmissão mecânica de organismos patogênicos é observada também dentre insetos, potenciais fontes de contaminação ambiental, especialmente em ambientes hospitalares, de trabalho e residenciais, conforme observado em baratas (TATFENG et al., 2005) e formigas. A transmissão mecânica é verificada em bactérias do gênero *Staphylococcus* (MOREIRA et al., 2005).

Os MRSA foram primeiramente relatados como tendo sido isolados a partir de animais em 1972 (DEVRIESE et al., 1972) e durante os anos subsequentes houve um número limitado de outros relatos. Nos últimos anos têm ocorrido mais relatos, envolvendo estas cepas resistentes em animais no Reino Unido. A literatura científica sugere que os seres humanos podem ter sido a fonte das cepas MRSA encontradas em animais colonizados ou infectados (DAFRA, 2008).

MRSA foi isolado a partir de animais de companhia principalmente, gatos e cães, mas também a partir de cavalos e coelhos. Os MRSA isolados, no Reino Unido são indistinguíveis entre si e foram isolados de animais de companhia e seres humanos, que mantiveram contato com eles, sugerindo que estes representam a mesma estirpe. Não se sabe, no entanto, se a prevalência de MRSA está aumentando em animais de companhia no Reino Unido ou até que ponto os animais podem formar um reservatório do organismo que possam constituir um risco para o homem ou para outros animais (DAFRA, 2008).

A transferência de bactérias provenientes dos animais de produção aos agricultores tem sido demonstrada, através do contato ou ingestão. Na comparação entre os suinocultores e controles de não fazendeiros e os agricultores, a taxa de *S.*

aureus em cavidades nasais foi significativamente maior nos suinocultores, quando comparados a pessoas que não lidam com os suínos (ARMAND-LEFEVRE et al., 2005), ou outros animais de produção (ZECCONI et al., 2006).

O *S. intermedius* é considerado patogênico e de interesse veterinário (OLIVEIRA, 2000), sendo encontrado na microbiota da pele, cavidade oral e cavidades nasais de cães, gatos, eqüinos e visons (KONEMAM et al. 2001). Ainda segundo o mesmo autor a estimativa de colonização de cavidades nasais e orais está em torno de 20 a 40% em humanos adultos saudáveis. Segundo Hirooka et al., (1988) e Futagawa-Saito et al. 2004, cepas de *S. intermedius* isoladas de cães com piodermatites produziram enterotoxinas C, D, E e TSST-1.

Cepas de *S. intermedius* extraídas de alimentos como peixe cozido e pasta de alho no Estado de Pernambuco mostraram-se enterotoxigênicas, demonstrando assim que a contaminação ocorreu, possivelmente, durante os estágios de produção ou estocagem destes alimentos (CUNHA NETO et al., 2002).

A microbiota normal da orelha externa dos cães é composta por bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp., e por leveduras da espécie *Malassezia pachydermatis* (BAXTER, 1976; DICKSON e LOVE, 1983). MATSUDA et al. (1984) realizaram cultivos com amostras da secreção da orelha média e da orelha externa canina, obtendo cultivo bacteriano em 48% das orelhas médias predominando *Staphylococcus* sp. e *Escherichia coli* e em 46% das orelhas externas predominando *Staphylococcus* sp. e leveduras.

Até o início dos anos 80, o principal patógeno cutâneo isolado a partir de lesões piogênicas das espécies caninas era o *S. aureus*. Entretanto, com base em estudos taxonômicos, Hájek (1976) descreveu uma nova espécie de estafilococos coagulase-positivo, que foi designada, *S. intermedius*, sendo que vários estudos posteriores confirmaram essa espécie como a mais prevalente em otites e piodermites em cães (CONCEIÇÃO e FABRIS, 1999). Talvez por esse motivo que alguns autores, como Blue e Wolley (1977), citam a espécie *S. aureus* como a mais freqüentemente isolada de cães com otite externa, visto que na época de seus estudos não havia ocorrido a mudança na taxonomia bacteriana.

Sasaki et al. (2005), ao compararem características de cepas de estafilococos comensais com as cepas patogênicas, verificaram que o índice de produção de enterotoxinas pelas cepas isoladas a partir de cães doentes era maior, determinando, dessa forma, a patogenicidade da microbiota composta por *S. intermedius* toxigênicos, quando comparado com o poder toxigênico de cepas da bactéria isoladas de animais saudáveis.

Ao estudar a prevalência de bactérias *S. intermedius* a partir de amostras de orelhas caninas infeccionadas em Michigan, Estados Unidos, em um período de cinco anos, Petersen et al. (2002) verificaram que 49,4% das amostras resultaram em cultivo desta bactéria. Yamashita et al. (2005), no Japão, isolaram estafilococos em 48,3% das amostras da secreção auricular de cães com otite externa, e em 68,3% das amostras de cães sem otite, constatando que este é o gênero mais prevalente em orelhas caninas. Esses autores observaram que *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* apresenta-se como único agente etiológico da otite externa em cães, tendo sido isolado a partir de dois cães com otite externa e de um cão aparentemente normal. Na Hungria foi verificado que *S. intermedius* foi o segundo agente mais isolado em otites em cães com prevalência de 39,22%, segundo Kiss et al (1997).

A existência do potencial zoonótico apresentado por cepas de *S. intermedius*, está mais comumente relacionada a injúrias invasivas, como mordidas por cães ou cateteres contaminados. Entretanto, é possível a infecção não invasiva de *S. intermedius* de um cão contaminado para um ser humano, conforme observado nos Estados Unidos (TANNER et al., 2000). No caso relatado por esses autores, o paciente humano apresentava otite externa infecciosa, sendo detectado pelo método da PCR que o agente causador era *S. intermedius*, o mesmo patógeno presente na otite externa do seu cão de estimação. Os autores destacam que, pelo fato de bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. não serem rotineiramente identificadas em sua espécie em muitos laboratórios humanos, infere-se que a prevalência de infecções por *S. intermedius* em humanos estaria subestimada. Dessa forma, uma maior importância do tratamento eficiente e rápido dos cães com otite externa, principalmente daqueles em contato próximo com pessoas com imunodepressão, muito jovens ou idosos.

2.7. PERFIL DE RESISTÊNCIA BACTERIANA A DROGAS

O aumento da resistência aos antimicrobianos tem se tornado um grave problema nas últimas décadas, em que, principalmente as bactérias Gram-positivas têm contribuído de maneira muito significativa para este aumento. Um microrganismo é resistente a um determinado antimicrobiano, quando ele é capaz de crescer “in vitro” na concentração que esta droga atinge no sangue. O conceito de resistência e sensibilidade está intimamente associado à concentração que o antibiótico ou quimioterápico atinge no principal local de sua ação (TAVARES, 1996).

Fleming, ao descobrir a penicilina em 1929, observou a resistência natural de microrganismos aos antibióticos, descrevendo que estes não possuíam mais efeito sobre bactérias do grupo coli-tifóide e *Pseudomonas aeruginosa* (*Bacillus pyocyaneus*) (FLEMING, 1929). A causa desta resistência natural foi, pouco depois, descoberta por Abraham e Chain, que, em 1940, demonstraram em extratos de *E. coli* uma enzima capaz de destruir a ação da penicilina, a qual denominaram penicilinase. Segundo Livermore (2000), a difusão do uso clínico da penicilina trouxe ao conhecimento o fato de que entre microrganismos sensíveis ao antibiótico havia também exemplares resistentes, sendo que no final dos anos 40 o fármaco já não era mais eficaz no tratamento de pacientes com infecção estafilocócica e a maioria dos isolados de *S. aureus* era resistente devido à produção de penicilinase. Desde então, iniciou-se a produção de novas gerações de antimicrobianos e conseqüentemente aparecimento de isolados resistentes.

A resistência natural faz parte das características biológicas dos microrganismos e pode ser observada em determinadas espécies bacterianas em relação a diferentes antimicrobianos. Esta resistência pode existir devido à falta de estrutura alvo ou à resistência a antibióticos específicos. Este tipo de resistência é previsível e tem importância clínica menor devido à multiplicidade de substâncias químicas, atualmente, disponíveis para tratamento de infecções bacterianas (MADIGAN et al., 1997). Os antibióticos não parecem ser agentes mutagênicos, portanto, não são causa direta do surgimento de resistência; eles apenas selecionam os microrganismos resistentes que existem em uma população bacteriana. Entretanto, os antibióticos podem ter a capacidade de induzir resistência em determinadas espécies bacterianas. Este

fenômeno é observado no gênero *Staphylococcus*, o qual ocorre produção da enzima β -lactamase, induzida pela presença dos antibióticos β -lactâmicos (TAVARES, 1996).

Com a evolução da ciência médica promovida pela melhora do diagnóstico das diversas enfermidades, melhora dos equipamentos médicos e por conseqüente melhora dos procedimentos realizados, abriu-se um novo campo para atuação da antibioticoterapia, sendo esta desenvolvida para tratar infecções provocadas por microrganismos emergentes e re-emergentes. Neste sentido, a adaptação dos microrganismos às diferentes drogas antimicrobianas empregadas passa pelos diferentes mecanismos de resistência desenvolvidos e caracterizados, principalmente, por métodos moleculares. Os mecanismos de resistência a antimicrobianos podem ser gerados por pressão seletiva e uso excessivo de antibióticos, principalmente em ambientes hospitalares, aumento de pacientes imunocomprometidos, erros no controle de infecção hospitalar, aumento de processos cirúrgicos invasivos e uso indiscriminado de antibióticos (FILE Jr., 1999).

Outro aspecto importante a ser considerado no aparecimento de resistência entre os microrganismos é o uso de drogas na criação de animais destinados a produção de alimentos, na profilaxia de doenças, na quimioterapia e como promotores de crescimento. A droga vancomicina, um glicopeptídeo usado na medicina humana e veterinária, está entre os princípios ativos com problemas relacionados ao surgimento de resistência natural em determinadas áreas, como ocorreu na Austrália em diferentes áreas de trabalho. A droga foi utilizada na área médica em proporções muito inferiores à utilizada na agricultura, como a avoparcina, outro glicopeptídeo utilizado na criação animal (WITTE, 1998). Gerando altos graus de resistência a esta droga na área veterinária.

Nos anos 50 a 70 ocorreu o aparecimento de *Staphylococcus* spp. resistentes à penicilina, nos anos 60 a 80 verificou-se o aparecimento de *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina, em especial *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA). No presente, encontram-se *Staphylococcus* spp resistentes à meticilina e espera-se o surgimento de *Staphylococcus* spp resistentes à vancomicina, tais como *S. aureus* (VRSA), isolado no Japão e nos Estados Unidos, o que ofereceria maior risco para a

população, à medida que tal resistência se torne ainda mais comum como no caso das cepas MRSA (CDC, 2002).

A resistência a antibióticos β -lactâmicos é causada pela alteração das proteínas de ligação das penicilinas (PBPs), relacionada à baixa afinidade deste antimicrobiano a estas proteínas, ou pela produção de enzimas de β -lactamases. No caso de fluoroquinolonas a resistência é causada pela alteração da DNA girase; nos macrolídeos a resistência é causada pela presença de enzimas metilantes; e para os glicopeptídeos a resistência é causada pela alteração de alvo (FILE Jr., 1999).

O antimicrobiano oxacilina é um antibiótico β -lactâmico (Penicilina M) sintético (3-fenil-5-metil-4-isoxazolilpenicilina) muito utilizado na prática médica para tratamento hospitalar de infecções causadas por *Staphylococcus* spp. (GILBERT et al., 2003). Para que os antibióticos β -lactâmicos atuem é necessário que estes penetrem na célula bacteriana, através de sua parede celular, inativando alvos específicos localizados na superfície interna da parede celular bacteriana. Se este mecanismo não estiver afetado, o antibiótico deverá ligar-se às Proteínas de Ligação das Penicilinas (PBP). Os antibióticos possuem afinidades variáveis às PBPs, no qual, alterações dessas afinidades ou aquisição de PBPs suplementares sem afinidades pelo antibiótico resultarão em uma resistência adquirida via mutação transmitida verticalmente às células descendentes (AMATO NETO et al., 1994).

Quando o antibiótico β -lactâmico se liga a um ou mais receptores de penicilina, a reação de transpeptidação é inibida e a síntese do peptidoglicano é bloqueada e, na seqüência, ocorre a inativação das enzimas autolíticas da parede celular. No caso de *Staphylococcus* spp. o principal mecanismo de resistência para oxacilina é a alteração das PBPs (CHAMBERS, 1997).

A resistência à oxacilina em *Staphylococcus* spp. é heterogênea, conferida principalmente pelo gene *mecA*, correlacionado à baixa afinidade deste antimicrobiano para proteína PBP2a. Um segundo mecanismo de resistência, independente do gene *mecA*, é o fenótipo denominado “borderline” promovido pela hiperprodução de β -lactamases (MARTINEAU et al., 2000). Um terceiro mecanismo de resistência descrito é a alteração de outras PBPs (PETERSEN et al., 2002; PETINAKI et al., 2001).

No estado do Rio de Janeiro isolados de *S. aureus* resistentes a várias drogas foram tipificados molecularmente, provenientes de avestruz e de amostras de leite de búfalos, bovinos, caprinos e ovinos, cujo padrão clonal ao ser comparado com *S. aureus* isolados de humano concluiu-se que os mesmos eram específicos de animais. As cepas circulantes, multirresistentes a drogas, no entanto, não apresentaram resistência à meticilina, pela ausência de amplificação do gene *mecA*, sendo classificadas desta forma como MSSA, ou *S. aureus* suscetíveis à meticilina, ao contrário daquelas denominadas cepas resistentes à droga, conhecidas como MRSA (AIRES-DE-SOUSA et al., 2007).

A meticilina foi introduzida em 1960 (FURUYA e LOWY, 2006) e desde o primeiro isolamento de MRSA no Reino Unido em 1961 (KIM et al., 2003), e por meados da década de 70 tinham se tornado endêmicos em muitos países (VOSS e DOEBBELING, 1995), sendo considerados um problema crescente em saúde pública nos últimos anos. Os MRSA são conhecidos agentes patogênicos hospitalares, sendo responsáveis por mais de 10% das infecções do sistema circulatório (WISPLINHOFF et al., 2004; COSGROVE et al., 2003), sendo 50% dos *S. aureus* isolados em centros de terapia intensiva (CTI) nos EUA resistentes à meticilina (FURUYA e LOWY, 2006) e em hospitais na Coréia do Sul, o MRSA representa mais de 70% dos isolados de *S. aureus* (KIM et al., 2003). De acordo com a literatura, portar *S. aureus* e MRSA é fator de risco para o desenvolvimento de infecções durante o internamento em UTI, aumentando a mortalidade desses pacientes (CDC, 2001).

Nos últimos anos a identificação de MRSA em indivíduos sadios em comunidades, também conhecido como CA-MRSA, é cada vez mais comum. Os isolados de CA-MRSA foram primeiramente relatados em indivíduos jovens saudáveis, sem problemas de saúde e estas cepas têm sido geralmente, sensíveis a antibióticos não-lactâmicos (BANCROFT, 2007).

Na maioria das comunidades Norte-Americanas os surtos têm envolvido os *Staphylococcus* apenas nas infecções de pele ou de tecidos moles e pouco tem sido relatado em infecções severas. Poucos departamentos de saúde têm sistemáticos programas de vigilância para a resistência antimicrobiana. Da lista de doenças notificáveis nos EUA, apenas três são observadas especificamente por serem causadas

por organismos com resistência antimicrobiana, são estes *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus* Vancomicina intermediária (VISA) e *S. aureus* Vancomicina resistentes (VRSA) (BANCROFT, 2007).

Um estudo no município de Campos dos Goytacazes relatou a ocorrência da síndrome do choque tóxico em uma criança vitimada por infecção por *S. aureus* toxigênico e posteriormente tratada, de forma bem sucedida, com vancomicina (DE SOUZA CAMPOS FERNANDES et al., 2005). Estirpes de *Staphylococcus* resistentes a antibióticos são isoladas de animais domésticos, entre profissionais e proprietários que entram em contato com tais animais (WEESE et al., 2006). A exposição a estes agentes patogênicos pode causar enormes prejuízos à saúde humana, ao sistema de saúde e aos produtores rurais.

2.7.1. A Importância da Resistência bacteriana à Oxacilina

A epidemiologia das infecções nosocomiais, causadas por *S. aureus*, passou a ser bem estudada a partir das décadas de 50 e 60, quando este foi considerado o agente que predominava no ambiente hospitalar, proporcionando o aumento de casos de infecção (WANG et al., 2002; MONTESINOS et al., 2003). Até o meio da década de 70, cepas de *S. aureus* resistentes à oxacilina (SARO) ocorriam esporadicamente e não constituíam problema clínico sério (TAMBIC et al., 1999; SAMY et al., 2003). Mais recentemente, muitos estudos de vigilância têm mostrado aumento da prevalência de SARO, entre cepas de *S. aureus* (SIMOR et al., 2001; SOLA et al., 2002; AIRES DE SOUZA et al., 2003; BANCROFT, 2007; PEREIRA et al., 2009 in press). Estudos americanos mostraram que esse patógeno foi a principal causa de infecções em diversas unidades hospitalares, com destaque para um aumento na incidência de 2,4% para 29% entre 1975 a 1991. Segundo Loureiro et al (2000), encontra-se a prevalência de SARO em torno de 40%.

Na Inglaterra, os índices aumentaram de 1,5% para 13,2% entre 1989 e 1995 (MELTER et al., 2003). No Brasil, a situação não é muito diferente. O SARO é reconhecido como um dos principais causadores de surtos nosocomiais, embora com grande variação em diversos hospitais do país, em proporção de 26,6 a 71% (SADER et al., 1995; LOUREIRO et al., 2000). A letalidade atribuída às infecções causadas por

SARO é da ordem de 4,5 a 50%, (MIRAGAIA et al., 2003). Em estudo no Estado de São Paulo foi constatada a presença de isolados MRSA em unidades pediátricas, porém com um declínio de SARO nos últimos anos, que segundo os autores pode ser atribuído ao sistema rotacional de uso de drogas na terapia antibacteriana de doenças causadas por *S. aureus* (PEREIRA et al., 2009 in press).

O mecanismo de disseminação dos SARO dentro dos hospitais, durante surtos, não está bem definido (SOLA et al., 2002); sabe-se que a principal forma de transmissão ocorre através do staff da área de saúde, durante o atendimento direto prestado aos pacientes, nos diferentes setores. Durante os surtos, os pacientes colonizados ou infectados pelo SARO agem como reservatórios e as infecções cruzadas acontecem mediadas pelos médicos, enfermeiros e outros profissionais da saúde que entram em contato com os pacientes (SOLA et al., 2002).

A escolha da oxacilina como tratamento primário, em pacientes hospitalizados, é sempre recomendada nos casos de infecções causadas por *Staphylococcus* spp., como endocardite infecciosa, sepse e para pacientes com próteses. Quando do encontro de *Staphylococcus* spp coagulase negativos resistentes à oxacilina, a escolha terapêutica fica muito restrita e neste caso deverá ser utilizado um esquema alternativo, com especial atenção a pacientes portadores de próteses; o principal esquema alternativo é o uso de vancomicina (GILBERT et al., 2003).

Os ECN representam aproximadamente 75% dos isolados resistentes à oxacilina. Estes microrganismos são os principais causadores de infecções nosocomiais, principalmente em pacientes imunocomprometidos, neonatos e em pacientes com próteses internas. Esses microrganismos apresentam o gene *mecA* que codifica a proteína PBP2a responsável pela resistência à oxacilina. A análise da presença deste gene serve como diagnóstico e ajuda na escolha da melhor terapia antimicrobiana (YORK et al., 1996).

Para pacientes de risco específico, como os portadores do vírus HIV, os índices de infecção hospitalar variam de 9 a 16%. As infecções da corrente sanguínea correspondem a cerca de 35% destas. O agente de maior frequência é *S. aureus* com 40% sendo, mais de 90% destes isolados MRSA. Os ECN correspondem a 21% dos isolados. Nestes casos, o uso de vancomicina é recomendado para tratamento de

sepsis nosocomial (OLIVEIRA JUNIOR et al., 1999). O uso excessivo de vancomicina leva a uma pressão seletiva, causando o aumento de isolados resistentes. Os ECN juntamente com *S. aureus* são as maiores causas de mortalidade e morbidade nos hospitais estudados na década de 90 (VON EIFF et al., 2000).

2.7.2. Agente Antimicrobiano para *Staphylococcus* Resistentes a Vancomicina e Oxacilina.

Daptomicina é o primeiro membro de uma nova classe de agentes antimicrobianos, os lipopeptídeos cíclicos, derivados de *Streptomyces roseosporus*, possuindo um largo espectro de ação (STEENBERGEN et al., 2005). Seu modo de ação é único, ligando-se às membranas bacterianas, na presença dos níveis fisiológicos de íons de cálcio (FUCHS et al., 2000, SILVERMAN et al., 2003). Daptomicina tem eficácia, sobretudo contra bactérias Gram-positivas, devido à sua incapacidade de penetrar na membrana externa de bactérias Gram-negativas (CARPENTER e CHAMBERS, 2004). Ela está disponível no mercado para ser utilizada pela via intravenosa, apresenta cinética linear e tem ação bactericida (SILVERMAN et al., 2003, LAGANAS et al., 2003).

Daptomicina é ativa contra uma ampla gama de microorganismos multirresistentes para os quais existem muito poucas alternativas terapêuticas, tais como MRSA. Esta droga foi aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA, em setembro de 2003 para o tratamento das infecções de pele severas e, recentemente, para o tratamento de bacteremia causada por *S. aureus* (CPI, 2006).

A daptomicina demonstrou forte atividade in vitro, em estudos com estafilococos e enterococos coletados em centros médicos europeus, no ano de 2005, resultando em um excelente agente terapêutico para uso em infecções graves causadas por estafilococos resistentes à oxacilina e à vancomicina na Europa (SADER et al., 2007).

2.7.3. *Staphylococcus* Associados a Comunidades (CA-MRSA)

Os *S. aureus* metilicina-resistente (MRSA) têm sido isolados e reconhecidos por décadas como um dos principais causadores de infecção hospitalar-adquirida ou associada à área da saúde em todo o mundo (OLIVEIRA et al., 2001; STEFANI e

VARALDO, 2003). Contudo, durante os últimos 10 anos, a epidemiologia dos MRSA mudou e infecções causadas por este microrganismo têm surgido em comunidades (KING et al., 2006; TRISTAN et al., 2007; BANCROFT, 2007) e entre criadores de suínos, caracterizando uma típica situação de zoonose (VAN BELKUM et al., 2008).

Os primeiros relatos de infecções por MRSA em comunidades foram descritos predominantemente em crianças, sem estabelecer fatores de risco para a aquisição MRSA e foram definidos como MRSA associados a comunidades (CA-MRSA) (CDC, 1999). A maioria das cepas CA-MRSA partilham um tipo IV de cromossomo estafilocócico mec (SCCmec) e que codificam Panton-Valentine Leukocidin (PVL), uma citotoxina, que provoca destruição nos leucócitos e necrose tecidual (VANDENESCH et al., 2003; VON EIFF et al., 2004). Cepas de MRSA PVL-positivas pertencentes a um número restrito de clones epidêmicos são independentes das cepas associadas a hospitais (TRISTAN et al., 2007).

Outra característica do CA-MRSA, ao contrário dos isolados hospitalares, seria sua susceptibilidade a muitos agentes antimicrobianos. CA-MRSA tendem a causar infecções de pequenos focos que afetam populações únicas e saudáveis, como as crianças, jovens e adultos de populações de Aborígenes australianos, americanos nativos, nativos do Alasca (inuite), prisioneiros, militares recrutas, homossexuais, atletas que competem em esportes de contato (MOELLERING, 2006).

Atualmente, as infecções por CA-MRSA PVL-positivas, parecem ser endêmicas em muitas regiões urbanas e causam a maior parte das infecções por *S. aureus* associados a comunidades nos Estados Unidos (KING et al., 2006), Austrália (RILEY et al. 1995), e em vários países da Europa (TRISTAN et al., 2007). Em 2002, foi realizado na Espanha um estudo onde se verificou que 30,5% dos *S. aureus* isolados foram MRSA, mas nenhum deles produziu a toxina PVL, no entanto, 70,2% apresentaram a SCCmec IV. Em um recente estudo sobre prevalência de MRSA na Espanha, apenas um dos isolados foi PVL positivo (CUEVAS et al., 2007). Devido à baixa prevalência de MRSA PVL-positivos observados na Espanha em 2004, foi iniciada uma busca ativa para verificar a presença da toxina PVL entre todos MRSA detectados e verificou-se que apesar da elevada prevalência de MRSA de origem hospitalar 30,5% (CUEVAS et al., 2004), a prevalência de CA-MRSA e PVL-CA-MRSA positivo ainda são

consideradas baixas (CERCENADO et al., 2008). Em estudos com diferentes espécies animais no Brasil, de um total de 30 isolados de *S. aureus* nenhum amplificou os genes *mecA* e *pvl*, responsáveis pela codificação de resistência à meticilina e de PVL, respectivamente (AIRES-DE-SOUSA et al., 2007).

Considerando que os MRSA adquiridos em hospital (HA-MRSA) são alvos de preocupação para pacientes internados desde a década de 60, recentemente, os isolados de MRSA associados a comunidades (CA-MRSA) têm se tornado uma ameaça (SAIMAN et al., 2003; CARLETON et al., 2004). Relatos de disseminação dos CA-MRSA de hospitais para as comunidades foram descritos, onde surtos têm ocorrido (SAIMAN et al., 2003; DAILEY et al., 2005). Uma vez que trabalhadores da área de saúde estão na interface entre os hospitais e as comunidades, cuidados devem ser tomados a longo prazo, pois estas pessoas podem servir como reservatórios, vetores ou vítimas de transmissão ou infecções cruzadas de MRSA, tanto no ambiente hospitalar como fora dele (SAX et al., 2006).

Os cuidados de transmissão de CA-MRSA para os trabalhadores da área de saúde ainda são pouco estudados, segundo Raab et al. (2006). Embora as taxas de colonização por CA-MRSA pareçam ser semelhantes a HA-MRSA, houve uma maior proporção de infecções por HA-MRSA, destacando o perigo direto para médicos e profissionais da área de saúde (LINDE et al., 2005). Este achado foi confirmado em recente estudo de um ambulatório com pacientes HIV positivos, em Baltimore (EUA), onde cepas idênticas, CA-MRSA, causaram infecções a dois trabalhadores, de um total de 70 da área de saúde, que mantiveram contato com os pacientes. O transporte por via nasal das cepas de MRSA foi observado em apenas três (2%) dos 138 trabalhadores da área da saúde, também nos EUA (JOHNSTON et al., 2006). Em contrapartida, foi observado o transporte nasal assintomático de cepas de CA-MRSA, em seis (5,8%) dos 104 agentes de saúde, analisados em uma casa de saúde na Alemanha (RAAB et al., 2006) e confirmando o relato anterior, de pessoas assintomáticas, em comunidades, como reservatório de CA-MRSA (HARBARTH, 2005).

Um estudo sobre a prevalência de *S. aureus* em trabalhadores da área de saúde forneceu dados sobre o deslocamento destas cepas sensíveis a meticilina (MSSA) nestes trabalhadores. De um total de 10.589 trabalhadores de saúde, 2.508 (23,7%)

foram encontrados com cepas de MSSA e, em 127 inquéritos, foi observada média de prevalência de MRSA de 4,6% (1.545 de 33.318) em trabalhadores desta área, colonizados (ALBRICH e HARBARTH, 2008).

2.8. TOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

As enterotoxinas estafilocócicas (EEs) são proteínas extracelulares com baixo peso molecular (25.000 a 30.000 daltons), hidrossolúveis, cuja composição de aminoácidos, estrutura molecular e atividades farmacológicas são semelhantes entre si, possuindo, entretanto, propriedades imunológicas distintas. Resistem à ação de enzimas proteolíticas e esta característica explica a capacidade de permanecerem ativas após sua ingestão, bem como em certos alimentos, resistindo à ação de enzimas produzidas por outros microrganismos e a enzimas do próprio alimento (LOPES, 1990; MARTIN e MYERS, 1994; SILVA, 1998; NOVAK, 1999).

Uma das características das enterotoxinas é a termo-resistência, que lhe confere a capacidade de resistir a tratamentos térmicos, como a pasteurização e a ultrapasteurização. A produção de enterotoxinas geralmente está relacionada com cepas e/ou espécies de estafilococos que produzem as enzimas coagulase e termonuclease, entretanto, algumas cepas e/ou espécies que não produzem coagulase e/ou termonuclease podem produzir enterotoxinas (JAY, 1992).

Por muitos anos *S. aureus* foi considerado a única espécie do gênero *Staphylococcus* capaz de produzir enterotoxinas, bem como de produzir coagulase. Posteriormente, outras espécies produtoras de enterotoxinas e de coagulase, tais como *S. hyicus* e *S. intermedius*, foram identificadas e, inclusive, surtos de intoxicação alimentar já foram atribuídos a estas duas espécies (GANDRA, 2003).

As enterotoxinas estafilocócicas e TSST-1, produzidas por *S. aureus*, são parte da família das pirotoxinas superantigênicas (PTSAG – Pyrogenic Toxin Superantigens). As PTSAGs são moléculas pequenas, polipeptídeos não glicosilados, com peso molecular na escala de 20 a 30 kDa (MARRACK e KAPPLER, 1990; DINGES *et al.* 2000). Cada enterotoxina estafilocócica recebe sua denominação iniciando-se pela enterotoxina estafilocócica, (inglês Staphylococcal Enterotoxin), seguida pelas letras em ordem crescente do alfabeto (SEA, SEB, SEC, SED, SEE etc.) de acordo com suas

características antigênicas (CASMAN, 1960). A enterotoxina F foi substituída, sendo denominada TSST-1, ou toxina da síndrome do choque tóxico-1 (BERGDOLL et al., 1981).

As enterotoxinas são classificadas, atualmente, em enterotoxina estafilocócica A (SEA) (CASMAN, 1960); enterotoxina estafilocócica B (SEB) (BERGDOLL et al., 1959); enterotoxina estafilocócica C (SEC) (BERGDOLL et al., 1965); enterotoxina estafilocócica D (SED) (CASMAN et al., 1967); enterotoxina estafilocócica E (SEE) (BERGDOLL et al., 1971), enterotoxina estafilocócica H (SEH) (SU e WONG, 1995), enterotoxina estafilocócica I (SEI), enterotoxina estafilocócica J (SEJ) e enterotoxina estafilocócica K (SEK) (BALABAN e RASOOLY, 2000), enterotoxina estafilocócica L (SEL) (ORWIN et al., 2003). Estudos complementares mais recentes descobriram, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER e SEU (JARRAUD *et al.*, 2001; LETERTRE *et al.*, 2003; OMOE *et al.*, 2004 e 2005). Cada sorotipo foi designado de acordo com uma nomenclatura padrão na qual a enterotoxina descoberta é nomeada com uma letra na ordem de seu descobrimento (MONDAY e BOHACH, 1999; BALABAN e RASOOLY, 2000).

Estas toxinas são proteínas que resistem aos métodos convencionais de tratamento do leite, como a pasteurização, e concentrações mínimas presentes nos alimentos contaminados são suficientes para desencadear os sintomas clínicos em indivíduos mais sensíveis. As toxinas estafilocócicas podem ser codificadas por profágos, (BETLEY e MEKALANOS, 1985), por plasmídeos, (BAYLES e IANDOLO, 1989) ou por ilhas de patogenicidade cromossomais (YARWOOD *et al.*, 2002).

Segundo zschöck *et al.* (2000) e Balaban e Rasooly (2000), cepas obtidas através de alimentos contaminados tiveram maior produção de SEA, ao contrário do que ocorre com cepas isoladas de mastite bovina, onde a produção de SEC prevalece sobre a produção das outras enterotoxinas (KENNY et al., 1993; MATSUNAGA et al., 1993; TAKEUCHI et al., 1998; ZSCHÖCK et al., 2004). Sabe-se que 95% de intoxicações alimentares são causadas por SEA e SEE (BERGDOLL 1983), enquanto os sintomas de choque tóxico em humanos podem ser causados pelas enterotoxinas A, B e C, além da TSST-1, provenientes de *S. aureus* (MONDAY e BOHACH, 1999). A homologia, acima de 80% (similaridade), entre a enterotoxina A (*sea*) e a enterotoxina E

(see) foi demonstrada por semelhança entre as duas seqüências, o que permite que o anti-soro anti-sea também detecte cepas see positivas (LEE et al., 1978).

A TSST-1, descrita na década de 80 (BERGDOLL et al., 1981), é responsável pela síndrome do choque tóxico (TSS) em humanos. Os *S. aureus* isolados de bovinos ou ovinos têm algumas características em comum com aquela encontrada em humanos podendo, provocar o TSS. Por essa razão, é de interesse o estudo de animais positivos para a produção desta toxina quando há convívio destes com seres humanos, sendo os animais apontados como provável fonte de infecções humanas (ZSCHÖCK et al., 2004).

Estas toxinas podem representar riscos à saúde pública por estarem presentes em laticínios (TATINI et al., 1973), além de causar injúrias à glândula mamária das espécies produtoras de leite (FERENS et al. 1998), levando à perda nos diferentes setores da cadeia produtiva e criação de animais leiteiros (SEKHON et al., 1984). Elas geram impacto econômico para os criadores e demais setores diretamente relacionados à atividade de produção de laticínios, causando grandes problemas aos seres humanos devido ao seu caráter zoonótico. Visto que animais de companhia podem transmitir estas bactérias, de acordo com KRAVETZ e FEDERMAN (2002), mordeduras ou arranhaduras de felinos domésticos, podem causar infecções em seres humanos.

Os sintomas da intoxicação estafilocócica surgem, em média, cerca de 4 horas após ingestão do alimento contaminado, podendo variar de 1 a 6 horas. Os principais sintomas são náuseas, vômitos, cólica abdominal, diarreia, sudorese, dor de cabeça e, algumas vezes, diminuição da temperatura corporal. Geralmente duram entre 24 e 48 horas e o índice de mortalidade é muito baixo (TRANTER, 1990; JAY, 1992; FRAZIER e WESTHOFF, 1993; FRANCO e LANDGRAF, 2002; GANDRA, 2003).

Foi observado que, as alterações ambientais, o crescimento econômico, a crise social e o advento da AIDS contribuem para a emergência de novas doenças e o reaparecimento de outras doenças antigas (EPSTEIN, 1995; HAVARD WORKING GROUP, 1995). O *Staphylococcus aureus* pode levar crianças e/ou indivíduos com problemas imunológicos ao óbito (EPSTEIN, 1995).

3 – OBJETIVOS

Objetivos gerais:

Realizar o levantamento epidemiológico dos *Staphylococcus* spp. de animais e pessoas circulantes nas comunidades carentes do município de Campos dos Goytacazes, de ambiente hospitalar que atende a duas comunidades, investigar possíveis fatores de patogenicidade e avaliar o seu grau de resistência a drogas, no período de 2006 a 2008.

Objetivos específicos:

- Caracterizar o perfil de resistência a 13 agentes antimicrobianos dos isolados de *Staphylococcus* de animais;
- Caracterizar o perfil de resistência a 13 agentes antimicrobianos dos isolados de *Staphylococcus* de humanos;
- Caracterizar o perfil de resistência a 13 agentes antimicrobianos dos isolados ambientais de *Staphylococcus* hospitalares;
- Avaliar as possíveis cepas produtoras de enterotoxinas (SEA – SEE) e TSST-1, isoladas de ambiente hospitalar, pelo teste de MSA;

4 – MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo faz parte do Programa Parasitoses do Norte Fluminense, foi aprovado pelo comitê de ética da FioCruz e aprovado institucionalmente entre os laboratórios envolvidos na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

4.1. LOCALIDADES ESTUDADAS

Foram estudadas quatro comunidades carentes, no município de Campos dos Goytacazes. Comunidade do Matadouro, localizada na região central do município (adjacências da Universidade Estadual do Norte Fluminense - Figura 1), comunidade de Arraial e Parque Santuário, localizadas no distrito de Travessão, localizadas na região periurbana a 25 Km do centro do município – Figura 2 e 3) e a comunidade de Lagoa de Cima, localizada na região periurbana, às margens da lagoa que nomeia esta comunidade (35 km do centro do município – Figura 4).

A colheita de amostras foi baseada em conveniência de coleta, onde foram feitas quando as pessoas investigadas estavam presentes em seus domicílios, no momento da visita. A maioria dos animais coletados neste estudo possuía domicílios, mas passavam a maior parte do tempo na rua, sendo isto, uma dificuldade para a coleta das amostras.



Figura 1 - comunidade de Parque Santuário, distrito de Travessão, Campos dos Goytacazes/RJ (Fonte: Google Earth, acessado dia 06 de janeiro de 2009). Coordenadas: 21° 36' 03.63" S, 41° 18' 31.39" O – Visão de 30 de Agosto de 2004.



Figura 2 – Comunidade de Arraial, distrito de Travessão, Campos dos Goytacazes/RJ (Fonte: Google Earth, acessado dia 06 de janeiro de 2009). Coordenadas: 21° 35' 56.60" S, 41° 18' 49.45" O – Visão de 30 de Agosto de 2004.



Figura 3 – Comunidade Matadouro, Região central do município de Campos dos Goytacazes-RJ (Fonte: Google Earth, acessado dia 06 de janeiro de 2009). Coordenadas: 21° 45' 39.33" S, 41° 17' 27.70" O – Visão de 30 de Agosto de 2004.



Figura 4 – Comunidade de Lagoa de Cima, às margens da lagoa, município de Campos dos Goytacazes-RJ (Fonte: Google Earth, acessado dia 20 de janeiro de 2009). Coordenadas: 21° 46' 55.57" S, 41° 31' 28.69" O

4.2. COLHEITA DE AMOSTRAS

Foram coletadas 115 amostras através de suabes microbiológicos estéreis oriundos de animais de companhia e produção das quatro comunidades, assim distribuídas: 30 amostras da comunidade Matadouro, 31 amostras da comunidade Parque Santuário, 27 amostras da comunidade de Arraial e 27 amostras da comunidade de Lagoa de Cima. Também foram obtidas amostras provenientes de seres humanos, com o auxílio de um enfermeiro, sendo 31 amostras da Comunidade do Parque Santuário, 52 amostras da comunidade Arraial, 40 da comunidade de Lagoa de Cima e 41 da comunidade de Matadouro, no total 164 amostras humanas, totalizando 279 amostras (figura 5 A e B). No hospital foram coletadas 37 amostras ambientais, contabilizando 316 amostras. As pessoas que optaram por participar do estudo assinaram um termo de consentimento (Anexo 2).

A coleta das amostras foi realizada com auxílio de suabe microbiológico estéril, nos animais as amostras foram coletadas da cavidade auricular, sendo que aves da cavidade oral, o bico. Nos seres humanos as amostras foram coletadas da cavidade nasal, das quatro comunidades citadas.



Figura 5 – Coleta de amostras humanas de animais em comunidades carentes de Campos dos Goytacazes/RJ.

Próximo às comunidades de Arraial e Parque Santuário foram coletadas amostras ambientais, com auxílio de suabe estéril em setores dentro do hospital, como consultórios pediátricos, obstétricos, ambulatórios e recepção, que atende as duas comunidades supracitadas. Nos consultórios foram coletadas amostras da maca de atendimento, mesa do médico e do chão, consultório pediátrico, foram coletadas dos mesmos lugares acrescentando-se a balança de pesagem das crianças, ambulatórios principalmente das macas e na recepção, amostras do balcão e das cadeiras de espera dos pacientes. Foi realizada entrevista com os moradores, antes da coleta das amostras, na qual foram obtidos dados como a idade, sexo e a presença de animais ou contato prévio com os mesmos (de companhia ou de produção) na casa ou na localidade.

O transporte das amostras do local das coletas ao laboratório foi realizado, colocando-se os suabes dentro de um isopor com tampa.

4.3. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus* spp.

No laboratório cada suabe foi inoculado primariamente em caldo BHI contendo 7,5% de NaCl (Vetec[®]) e, posteriormente, em agar sangue (Acumedia, EUA) acrescido de 5% de sangue estéril desfibrinado de carneiro. Em seguida as placas foram incubadas durante 24 e 48 horas a 37°C em estufa bacteriológica. As colônias foram observadas quanto à sua morfologia, coloração e padrão de hemólise. As colônias purificadas foram submetidas a análises bioquímicas.

4.4. ANÁLISE BIOQUÍMICA

As bactérias classificadas pela sua morfologia, como cocos Gram-positivos, através de microscopia ótica, foram testadas quanto ao teste da catalase (Sigma[®]), teste da oxidase (Sigma[®]), teste de produção de coagulase (Difco[®]), fermentação aeróbia de manitol e ribose (Difco[®]), teste de DNase (Difco[®]), β -galactosidase (Fluka[®]), resistência a novobiocina (Laborclin[®]) e prova de Voges-Proskauer (VP, Merck[®]) e atividade hemolítica, para a caracterização do gênero *Staphylococcus* spp.

Após a obtenção de colônias puras, bactérias Gram-positivas foram testadas por meio de testes de rotina microbiológica com o uso de meios padronizados para identificação do gênero e espécie. Em casos de dúvida na classificação pela metodologia descrita anteriormente, as classificações foram confirmadas pelo uso de kits miniaturizados, Api ID32 Staph, (Biomeriéux, França) com leitura automatizada pelo equipamento MiniApi (Biomeriéux, França).

4.4.1. Fermentação de manitol

A fermentação de manitol foi observada em aerobiose, com a inoculação das bactérias em Agar Volgel-Johnson ou tubo contendo manitol (incubadas por 24 horas a 37°C). Foram consideradas positivas as colônias que converteram a coloração do meio do vermelho para o amarelo.

4.4.2. Teste de catalase

As colônias isoladas de agar Volgel-Johnson ou agar sangue foram depositadas sobre lâmina de vidro, em seguida 50µL de peróxido de hidrogênio 10 volumes (Sigma, EUA) foram colocados sobre as colônias. O imediato aparecimento de bolhas indicou teste positivo, já que a produção de efervescência indica a conversão do H₂O₂ em água e oxigênio gasoso

4.4.3. Teste de produção de coagulase

Amostras das colônias selecionadas foram transferidas para tubos (12mm x 75mm) contendo 0,5 mL de plasma de coelho adicionado de EDTA, e em seguida incubados a 37°C. Foi observada a formação do coágulo, com cinco leituras (uma, duas, quatro, oito e 24 horas após incubação), durante 24 horas. A formação de coágulo, por inspeção visual, foi indicativa de teste positivo. Em cada teste foram incluídas amostras, como controle positivo (*S. aureus* - ATCC-25923, American Type Culture Collection) e como controle negativo (*Staphylococcus schleiferi* sub *schleiferi*).

4.4.4. Teste de oxidase

As colônias isoladas em agar sangue foram depositadas e espalhadas sobre discos de papel contendo para-aminodimetilanilina, com auxílio de alça de platina, para detecção da produção de oxidase pelos microrganismos. Colônias de *S. aureus* foram oxidase-negativos, portanto, não desenvolvem coloração violeta, típica dos microrganismos oxidase-positivos.

4.4.5. Teste de DNase

Este teste determina a atividade da desoxirribonuclease dos organismos. Consiste na incubação de colônias puras em agar DNase test (Difco, USA) a 37°C por 24 horas, adicionando-se em seguida ácido clorídrico (HCl) a 1,5 N sobre as colônias. Após alguns segundos, procedeu-se à leitura. A formação do halo transparente em torno das colônias indicou reação de positividade.

4.4.6. Atividade hemolítica

Para a realização do teste foram seguidas, as recomendações de KONEMAM et al. (2001) e MURRAY et al. (1999). Preparou-se placas de Petri contendo agar sangue de carneiro 5 %, que foram demarcadas na parte externa inferior, de maneira a dividir a placa em quatro espaços iguais onde, em cada espaço, estriava-se aproximadamente 1cm da cepa a ser testada. Após, as placas foram submetidas à incubação a 37°C por 24 a 48 horas e a verificação do resultado foi realizada através de observação visual de zonas claras (hemólise) ao redor do crescimento (resultado positivo) ou da ausência dessas, sem alteração do meio (resultado negativo).

4.4.7. Prova de Voges-Proskauer (VP)

Utiliza-se o caldo VM/VP. A acetoína é convertida a diacetila na presença de oxigênio atmosférico e hidróxido de potássio a 40%, sendo que o α -naftol atua como catalisador para produzir um complexo de cor vermelha. A acetoína é um subproduto inativo proveniente de uma das vias de degradação fermentativa da glicose, produzida por alguns grupos bacterianos. Agita-se a reação permitindo descanso em temperatura ambiente durante cinco a 15 minutos. O aparecimento de coloração avermelhada indica reação positiva.

4.4.8. β -galactosidase

Apresentada na forma de discos ONPG (Discos de β -Galactosidase). Utilizada para detectar a presença de β -galactosidase, enzima encontrada em organismos fermentadores de lactose. A utilização de lactose depende de duas enzimas: β -galactosidase permease, a qual catalisa transporte de lactose na célula, e β -galactosidase que quebre lactose em galactose e glicose. A β -galactosidase lactose não é específica e pode agir sobre galactosídeos simples, incluindo o substrato presente nos discos de ONPG.

4.4.9. Resistência a novobiocina

Apresentada na forma de discos de papel impregnados com novobiocina para o uso na diferenciação entre estafilococos. A prova da novobiocina permite distinguir cepas de *S. saprophyticus* de outros *Staphylococcus* coagulase negativos.

4.4.10. Fermentação de ribose

A fermentação de ribose foi observada em aerobiose, com a inoculação das bactérias em tubo contendo ribose (incubadas por 24 horas a 37°C). Foram consideradas positivas as colônias que converteram a coloração do meio do avermelhado para o amarelo.

4.5. ANTIBIOGRAMA

As bactérias isoladas foram testadas quanto à sua resistência e susceptibilidade a 13 antibacterianos padronizados para espécies Gram-positivas. Para tal, foi utilizada a técnica de difusão em agar Müller Hinton, segundo as especificações do NCCLS (2003), e o perfil de cada bactéria foi avaliado de acordo com o halo formado frente a cada antibiótico, medido com auxílio de um paquímetro. Os discos impregnados com antibióticos (Sensifar[®]) continham as seguintes drogas para bactérias Gram-positivas: amoxicilina (AMO, 10 μ g), clindamicina (CLI, 2 μ g), cefalotina (CFL, 30 μ g), penicilina G (PEN, 10U), oxacilina (OXA, 1 μ g), tetraciclina (TET, 30 μ g), ampicilina (AMP, 10 μ g), eritromicina (ERI, 15 μ g), sulfazotrim (SUL, 25 μ g), gentamicina (GEN, 10 μ g), cefoxitina (CFO, 30 μ g), vancomicina (VAN, 30 μ g) e enrofloxacina (ENO, 5 μ g);

4.6. TESTE DE PRODUÇÃO DE TOXINAS

Para a identificação de cepas de estafilococos produtoras de toxinas foi empregada a metodologia de membrana sobre agar detectada por imunodifusão em agar nobre (Difco®) segundo a metodologia utilizada previamente (PEREIRA et al., 1994). Somente isolados de origem hospitalar foram testados, nesta metodologia.

4.6.1. Membrana Sobre Agar (MSA)

Alíquotas (0,1 mL) de cada cultivo bacteriano foram distribuídas homogeneamente sobre membranas de diálise (que retém moléculas entre 12.000 a 14.000 Da (Sigma® EUA), colocadas e espalhadas sobre a superfície de placas de Petri (10 cm de diâmetro) contendo agar BHA. Em seguida (as placas) foram incubadas a 37°C por 24 horas. Durante a incubação formaram-se massas de células bacterianas sobre a superfície da membrana rica em toxinas. Esta massa contendo bactérias e toxinas foi lavada com 3,0 mL de tampão PBS (NaCl; KCl; Na²HPO⁴; KH²PO⁴, pH 7,4) e transferida para tubos de polipropileno (Corning®, EUA). As bactérias foram removidas por centrifugação a 2.800 G por 10 minutos, sob temperatura de 4°C. Os sobrenadantes foram transferidos para tubos de polipropileno e congelados a – 20 ° C (ROBBINS *et al.*, 1974). Padrões de toxinas e anti-toxinas SEA, SEB, SEC, SED, SEE e TSST-1, cedidas pela Fundação Ezequiel Dias – FUNED, foram utilizados para caracterização das toxinas obtidas, na imunodifusão de toxinas em agar. A enterotoxina E (SEE) pode ser detectada, mas não diferenciada, por anticorpos anti-SEA, devido à sua homologia de até 80% (LEE et al., 1978).

4.6.2. Imunodifusão de Toxinas em Ágar Nobre

A detecção de toxinas foi realizada pelo método de Ouchterlony, utilizaram sobrenadantes obtidos a partir de cultivo de Membrana Sobre Agar (MSA).

Foram utilizadas placas (Falcon®, EUA) com 5 cm de diâmetro e contendo 3,5 mL de agar “Noble” (Difco®, EUA) a 1,2% em PBS pH 7,4 adicionada de 200 µL de thimerosal (Sigma®, EUA) na concentração de 1:1000. Foram abertos dois poços de 6,7 mm e 5 poços de 8,3 mm de diâmetro no agar e aspirados, conforme molde FRI (Food

Research Institute, WI, EUA). Foram colocados nos quatro poços laterais (8,3 mm), 50 μ L dos sobrenadantes testados. A antitoxina padrão (50 μ L), foi colocada no poço central (8,3 mm) de cada placa, a toxina padrão correspondente (25 μ L na concentração 4 μ g/mL) foi colocada nos dois poços menores. Após incubação a 37°C/24h em câmara úmida, foram considerados como positivos os testes que apresentaram a formação de uma linha de precipitação entre a antitoxina padrão e a amostra testada, indicando a presença da respectiva toxina nos sobrenadantes testados. Foram testadas as enterotoxinas A, B, C, D e E padrão e TSST-1 padrão e as antitoxinas correspondentes padrão (Figura – 6), todas cedidas pela FUNED. Foram testadas apenas as amostras coletadas do ambiente hospitalar.

Os resultados positivos obtidos, tiveram seus géis corados com azul brilhante de Coomassie R-250, após etapa de 72 horas em solução de 0,9% NaCl (p / v) com trocas diárias da solução salina, para remoção de proteínas não precipitadas presentes no gel, e em seguida descorados com solução descorante de ácido acético ou metanol (SU e WONG, 1995).

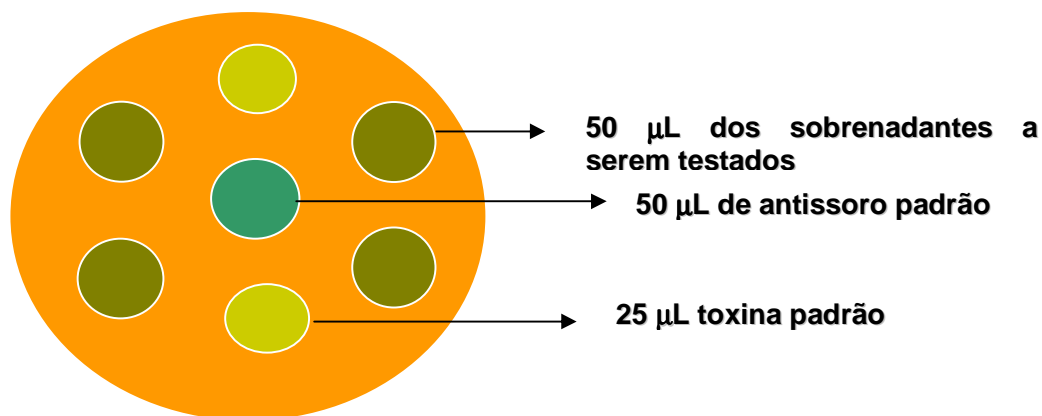


Figura 6 – Esquema do método de Ouchterlony (imunodifusão), para detecção de toxinas estafilocócicas.

4.7. ANALISE ESTATÍSTICA

Foi realizada análise estatística descritiva das principais variáveis. A prevalência de cepas resistentes, sensíveis e intermediárias e a divisão por faixa etária de isolados *Staphylococcus* coagulase positiva foram comparadas pelo teste de χ^2 a 5% de probabilidade de cada comunidade.

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 284 isolados de *Staphylococcus* spp., sendo 95 amostras isoladas de animais, 164 amostras de seres humanos e 25 amostras do ambiente hospitalar, entre os anos de 2006 a 2008 no município de Campos dos Goytacazes. Nos animais foram isoladas cepas de *Staphylococcus* spp., 26 isolados na comunidade de Matadouro, 26 na comunidade de Parque Santuário, 21 na comunidade de Arraial e 22 na comunidade de Lagoa de Cima. Nas amostras humanas 100% dos suabes coletados foram isolados cepas de *Staphylococcus* spp. No ambiente hospitalar foi verificado o isolamento de 25 amostras de *Staphylococcus* spp. nos setores investigados.

5.1. IDENTIFICAÇÕES DAS CEPAS

Foram utilizados para a identificação dos isolados de *stahylococcus* spp. métodos bioquímicos e quando se fez necessário, foi utilizado o kit Mini api. Métodos de identificação por kits padronizados têm sido usados por diferentes autores. Foi visto a identificação fenotípica de 232 amostras de *Staphylococcus* spp., utilizada para separação de *S. schleiferi* subsp. *coagulans* de outras 20 espécies do gênero isolados de cães, entre elas *S. intermedius* e *S. aureus*, comparando-se os resultados bioquímicos com a metodologia molecular por PCR. Os autores mostraram que os isolados de *S. aureus* e *S. intermedius* apresentaram resultados muito próximos por ambas as técnicas (JOUSSON et al., 2007). André et al. (2008) ao avaliarem o perfil de contaminação de amostras de queijos por *Staphylococcus* spp., separaram 12 espécies do gênero, a partir de 68 amostras analisadas pelo kit miniApi. Amostras ambientais isoladas a partir de formigas que freqüentavam hospitais em Campos dos Goytacazes foram classificadas pela mesma metodologia, separando oito espécies do gênero, porém sem isolamento de *S. intermedius*, e todas apresentando perfis variados de resistência a drogas (MOREIRA et al., 2005).

Neste trabalho, os isolados de cocos coagulase positiva, catalase positiva, oxidase negativa e hemolíticos, foram submetidos aos testes observados na figura 6 a fim de classificá-los como *S. aureus* ou *S. intermedius*. Com o intuito de realizar uma

classificação exata dos isolados de estafilococos, foi utilizado o kit miniApi ID32 STAPH para isolados que deixaram dúvida na identificação ou não foi conseguida a identificação pelos testes bioquímicos utilizados neste trabalho. De acordo com o manual de identificação deste kit, para separação entre *S. aureus* e *S. intermedius* os testes para β -galactosidase e ribose, a proporção de positividade seria de 1% para as cepas de *S. aureus* e 99% para *S. intermedius*, respectivamente. No mesmo manual foi observada a identificação destes microrganismos para o manitol a relação de 94% de positividade para *S. aureus* e 47% de positividade para *S. intermedius*. A combinação de uma série de testes bioquímicos sugere a identificação apropriada dos isolados de *Staphylococcus* spp.

O esquema (figura 7) ilustra a metodologia utilizada para separação de isolados de *Staphylococcus* coagulase-positivos identificados neste trabalho, pela metodologia de testes bioquímicos e quando não se saia um resultado satisfatório era utilizado o Kit padronizado mini Api.

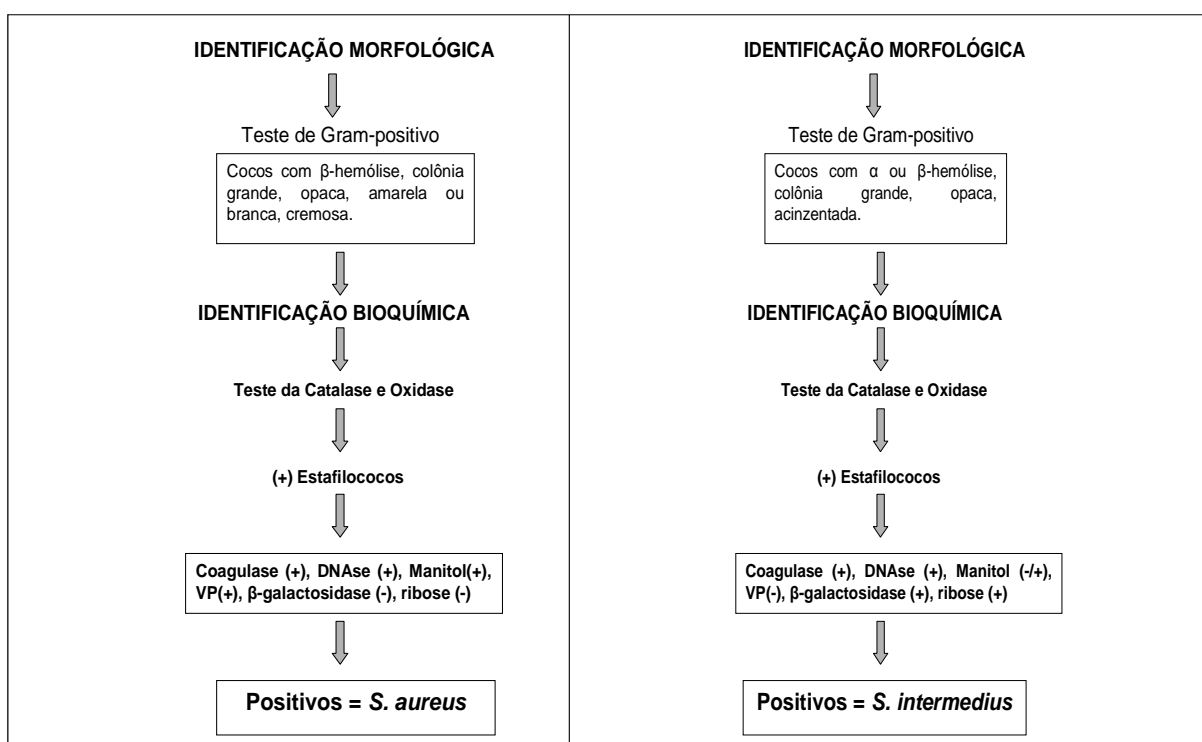


Figura 7 – Método de identificação de *S. aureus* e *S. intermedius* isolados de animais, do ambiente e de seres humanos, pelo uso de provas bioquímicas.

No Brasil, alguns autores observaram que a prevalência de *Staphylococcus* spp. em animais pode representar riscos para os seus proprietários por serem portadores de isolados resistência a drogas, entre eles felinos (LILENBAUM, et al., 1998) e a transmissão vertical de cepas de *S. intermedius* dos animais para seus proprietários (VAN DUIJKEREN, et al., 2004; VAN DUIJKEREN, et al., 2008). A prevalência de *S. intermedius* em amostras de cães portadores de infecções do conduto auditivo em Michigan, Estados Unidos, foi de aproximadamente 50%, segundo Petersen et al. (2002). No Japão, Yamashita et al. (2005), isolaram 48,3% de cepas estafilocócicas de amostras da secreção auricular de cães com otite externa, além de animais não portadores da doença (68,3%), sugerindo que este gênero é o mais prevalente em conduto auditivo de cães. Além de *S. intermedius*, os autores observaram que *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* apresenta-se como agente etiológico de otite externa em cães normais. A prevalência de 39,22% foi observada na Hungria onde *S. intermedius* foi o segundo agente mais isolado em otites em cães (KISS et al., 1997). Na região alvo deste estudo também foram isolados *Staphylococcus* spp de animais apresentando otites (XIMENES et al., 2007). O *S. intermedius* já foi isolado de um caso de endocardite infecciosa em um paciente portador do vírus HIV (LLORCA et al., 1992).

Os riscos de transmissão das bactérias do gênero *Staphylococcus* têm sido alvo de discussões entre diferentes autores. Morgan (2008) discute a necessidade de estratégias para o controle de possíveis transmissões de MRSA entre animais de diferentes categorias, entre elas os de companhia e humanos é uma necessidade na sociedade com o crescente número de animais que convivem nos lares. O termo “*humanose*” é aplicado pela autora devido à possibilidade da transmissão destas bactérias de humanos para os animais, enfatizando que o termo zoonose, muitas vezes pode estar superestimado. Guardabassi et al. (2004), demonstram a transmissão de *S. intermedius* multirresistentes de cães, portadores de piodermite estafilocócica, para seus proprietários e também discutem a possibilidade de transmissão de genes de resistência entre cepas patogênicas do gênero que afetam humanos.

As cepas estafilocócicas isoladas dos animais nas comunidades estudadas, no município de Campos dos Goytacazes/RJ, em sua maioria, foram isoladas de animais

de companhia, principalmente cães, seguidos de gatos e também de alguns animais de produção como bovinos, aves e animais de tração como eqüinos (Tabela 2).

Tabela 2 – Número de isolados de *Staphylococcus* spp. das espécies de animais investigadas nas quatro comunidades estudadas em Campos dos Goytacazes, RJ.

Animais	Número de amostras (%)
Cães	64 (67,37%)
Gatos	13 (13,68%)
Eqüinos	07 (7,37%)
Aves	08 (8,42%)
Bovinos	03 (3,16%)

A relação dos isolados de *Staphylococcus* spp. coletados dos animais nas quatro comunidades pode ser observado na tabela 3.

Tabela 3 – Amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de animais nas quatro comunidades estudadas no município de Campos dos Goytacazes, RJ.

Comunidades/ Microorganismo	Matadouro	Parque Santuário	Arraial	Lagoa de Cima	Total
<i>S. intermedius</i>	17 (65,4%)	10 (38,5%)	9 (43,0%)	11 (50%)	47
<i>S. aureus</i>	-	-	3 (14,3%)	4 (18,19%)	7
<i>S. saprophyticus</i>	-	2 (7,7%)	-	-	2
<i>S. xylosus</i>	2 (7,7%)	2 (7,7%)	1 (4,7%)	-	5
<i>S. chromogenes</i>	2 (7,7%)	-	3 (14,3%)	-	5
<i>S. haemolyticus</i>	1 (3,8%)	1 (3,8%)	-	-	2
<i>S. waneri</i>	-	3 (11,5%)	1 (4,7%)	1 (4,54%)	5
<i>S. simulans</i>	-	1 (3,8%)	1 (4,7%)	1 (4,54%)	3
<i>S. epidermidis</i>	-	2 (7,7%)	-	1 (4,54%)	3
<i>Staphylococcus</i> spp.	4 (15,4%)	5 (19,3%)	3 (14,3%)	4 (18,19%)	16
Total	26	26	21	22	95

Foi percebida a maior presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, *S. intermedius* e *S. aureus*, nos animais das comunidades visitadas, porém, curiosamente, em Parque Santuário e Matadouro não se identificou isolados de *S. aureus* nas amostras coletadas dos animais. A maior concentração de *S. intermedius* foi observada na comunidade Matadouro, localizada nas adjacências da Universidade Estadual do Norte Fluminense e os animais na sua maioria são animais que vivem na rua e mantêm contato com muitas pessoas e outros animais, oferecendo possíveis riscos de disseminação deste microrganismo de caráter zoonótico nestes locais, segundo Tanner et al (2000). Tal hipótese foi confirmada, pois o perfil de infecção pela bactéria foi observado em animais soltos nas ruas. Como era esperado, constatou-se tal prática (animais soltos) em todas as comunidades visitadas, excepcionalmente, em algumas casas os animais (cães e gatos) não tinham contato com a rua, sendo criados em quintais ou dentro de casa. Esta diferença foi observada, pois cães criados soltos apresentaram maior presença de *S. intermedius* e *S. aureus* contabilizando um total de 67% de *Staphylococcus* coagulase positiva para animais soltos e 32,37% para animais criados em quintais (presos).

Na comunidade do Matadouro foi realizada uma coleta de amostra de uma pessoa de 27 anos com hanseníase diagnosticada e em tratamento, cujo isolado *S. aureus* mostrou-se multirresistente (ampicilina, eritromicina, tetraciclina, amoxicilina e penicilina); ressalta-se que a moradora é mãe de duas filhas, as quais não quiseram participar do estudo.

Nas quatro comunidades estudadas foram isoladas amostras de *S. aureus* e *S. intermedius*, verificando-se uma maior concentração destes microrganismos na comunidade de Arraial em Travessão (Tabela – 4).

Tabela 4 – Isolados de estafilococos identificados nos seres humanos nas quatro comunidades estudadas no município de Campos dos Goytacazes, RJ.

Comunidades/ Microorganismo	Matadouro	Parque Santuário	Arraial	Lagoa de Cima	Total
<i>S. intermedius</i>	4 (9,75%)	4 (12,9%)	12 (23,07%)	9 (22,5%)	29
<i>S. aureus</i>	11 (26,8%)	7 (22,59%)	14 (26,92%)	9 (22,5%)	41
<i>S. hyicus</i>	-	-	1 (1,92%)	-	1
<i>S. xylosus</i>	1 (2,43%)	2 (6,45%)	2 (3,84%)	1 (2,5%)	6
<i>S. chromogenes</i>	1 (2,43%)	-	1 (1,92%)	-	2
<i>S. haemolyticus</i>	-	-	4 (7,70%)	2 (5,0%)	6
<i>S. epidermidis</i>	3 (7,38%)	3 (9,68%)	4 (7,70%)	3 (7,5%)	13
<i>Staphylococcus spp.</i>	10 (24,4%)	2 (6,45%)	-	5 (12,5%)	17
<i>S. hominis</i>	8 (19,51%)	8 (25,8%)	6 (11,54%)	8 (20,0%)	30
<i>S. lentus</i>	1 (2,43%)	1 (3,23%)	3 (5,78%)	1 (2,5%)	6
<i>S. lugdunensis</i>	-	-	1 (1,92%)	-	1
<i>S. saprophyticus</i>	2 (4,87%)	4 (12,9%)	4 (7,69%)	2 (5,0%)	12
Total	41	31	52	40	164

5.2. DISTRIBUIÇÃO DE *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASE POSITIVA POR FAIXA ETÁRIA DE SERES HUMANOS.

Tabela 5 – Distribuição de *S. aureus* e *S. intermedius*, por faixa etária de indivíduos investigados, na comunidade de Parque Santuário – Travessão, distrito de Campos dos Goytacazes/RJ.

Faixa etária/ Microorganismo	1 a 12 anos	15 a 49 anos	50 a 70 anos
<i>S. aureus</i>	1 (14,28)	4 (57,15)	2 (28,57)
<i>S. intermedius</i>	-	3 (75%)	1 (25%)
Total – 11 amostras	1	7	3

Tabela 6 – Distribuição de *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus*, por faixa etária na comunidade de Arraial– Travessão, distrito de Campos dos Goytacazes/RJ.

Faixa etária/ Microorganismo	1 a 12 anos	15 a 49 anos	50 a 70 anos
<i>S. aureus</i>	1 (7,15%)	10 (71,42%)	3 (21,43%)
<i>S. intermedius</i>	1 (8,33%)	10 (83,34%)	1 (8,33%)
<i>S. hyicus</i>	-	1 (100%)	-
Total – 27 amostras	2	21	4

Tabela 7 – Distribuição de *S. aureus* e *S. intermedius*, por faixa etária na comunidade Matadouro, região central do município de Campos dos Goytacazes/RJ.

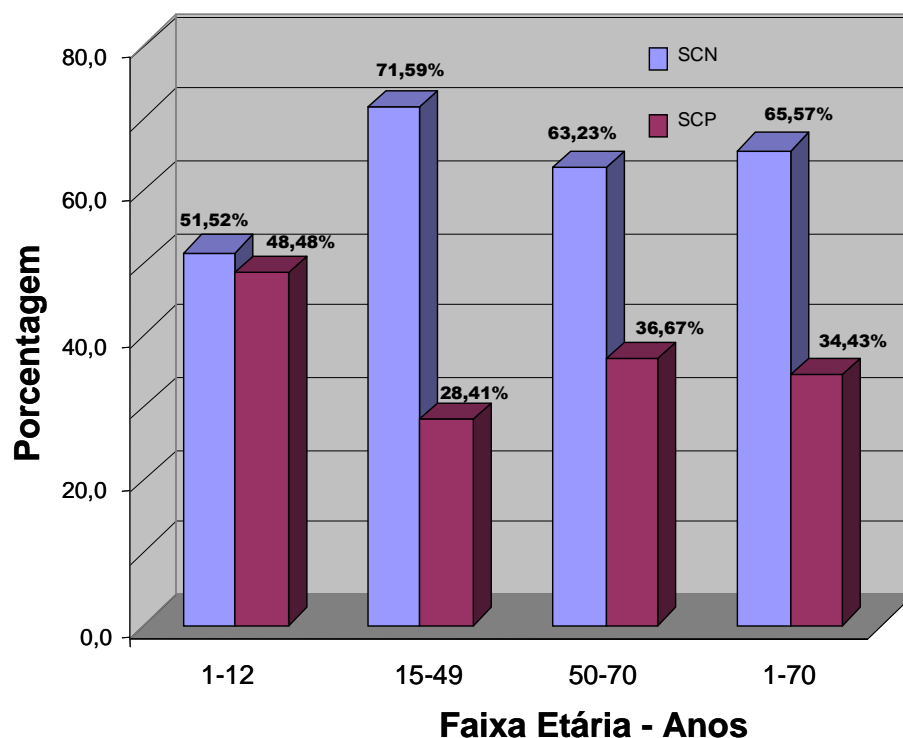
Faixa etária/ Microorganismo	1 a 12 anos	15 a 49 anos	50 a 70 anos
<i>S. aureus</i>	7 (63,64%)	2 (18,18%)	2 (18,18%)
<i>S. intermedius</i>	2 (50%)	2 (50%)	-
Total – 15 amostras	9	4	2

Tabela 8 – Distribuição de *S. aureus* e *S. intermedius*, por faixa etária na comunidade de Lagoa de Cima, distrito de Campos dos Goytacazes/RJ.

Faixa etária/ Microorganismo	1 a 12 anos	15 a 49 anos	50 a 70 anos
<i>S. aureus</i>	1 (11,11%)	6 (66,67%)	2 (22,22%)
<i>S. intermedius</i>	2 (22,22%)	3 (33,33%)	4 (44,44%)
Total – 18 amostras	3	9	6

Verificou-se a maior presença de *Staphylococcus* coagulase-positiva na faixa etária intermediária de 15 a 49 anos (Tabelas 5 – 8), sugerindo-se que os indivíduos das comunidades estudadas e situados na faixa etária produtiva possuem maior fator de risco de contrair infecções causadas por *Staphylococcus*. A prática de tatuagens em comunidades carentes pode sugerir risco, levando em conta os locais inapropriados, prática comum em comunidades carentes. Segundo CDC (2006), os CA-MRSA foram isolados em clínicas de tatuagens, não registradas, em comunidades nos estados de Ohio, Kentucky e Vermont. Os surtos foram identificados por profissionais do controle de infecção hospitalar e relatados aos serviços de saúde locais em seis comunidades

nos estados supracitados. A idade dos pacientes acometidos variou entre 15 e 42 anos, sendo a maioria do sexo masculino (73%).



* nível de significância de 5% (p. 0,05)

Figura 8 – Avaliação de *Staphylococcus* spp. coagulases positivas e negativas pela faixa etária das amostras das pessoas das 04 comunidades coletadas.

A figura 8 demonstra a avaliação de *Staphylococcus* coagulase positiva comparada entre as faixas etárias e a média geral das quatro comunidades estudadas. As proporções de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de faixa etária de jovens (01-12 anos) e nos adultos (15-49 anos) diferem estatisticamente em nível de significância de 5% (p. 0,05) da média geral (colunas 01 a 70 anos) e no grupo dos idosos. Sendo a faixa etária jovem considerada maior e a faixa etária adulta considerada menor, a faixa etária dos idosos não diferiu estatisticamente da média geral.

A região Norte Fluminense, onde se insere o município de Campos dos Goytacazes e municípios satélites, se enquadra em patamares socioeconômicos considerados críticos, segundo os indicadores fornecidos pelo governo do Estado do Rio de Janeiro, em estudo dos órgãos envolvidos nas diferentes áreas afins (FAPERJ,

2003). Os dados obtidos neste trabalho, cujas coletas foram realizadas em comunidades carentes do município de Campos dos Goytacazes, podem sugerir o alto risco a que as crianças estão expostas tendo em vista o padrão nutricional em que estas podem se encontrar. Na comunidade de Matadouro observa-se um perfil muito elevado de *Staphylococcus* coagulase positiva na faixa etária de 1 - 12 anos, sugerindo um maior fator de risco que as crianças nesta faixa etária estão expostas. O intervalo mais abrangente, a faixa etária de 15 a 49 anos apresentou o maior índice quando comparadas todas as comunidades estudadas. Além disso, a confirmação de resistência bacteriana em amostras coloca estas crianças sob possível fator de risco. A susceptibilidade às doenças decorrente do estado nutricional é um apanágio na medicina e a pesquisa do grau de desnutrição protéico-energética em crianças na faixa etária crítica de 6 anos de idade e pertencentes a populações de alto risco de mortalidade, são alvo de estudo (ANJOS et al., 1999; REICHENHEIM e HARPHAM, 1990).

Uma criança, de 7 anos de idade, exposta a infecção estafilocócica e alvo de síndrome do choque tóxico, que correu alto risco de morte, representante de uma comunidade carente de Campos dos Goytacazes (DE SOUZA CAMPOS FERNANDES et al., 2005), pode ser um dos exemplos da rotina de riscos a que cidadãos estão expostos.

A necessidade de controle do uso adequado de antimicrobianos no Brasil é discutida, cujo problema principal é a resistência dos microrganismos aos antimicrobianos, atribuindo-se o problema a todos os envolvidos no processo de tratamentos contra infecções, desde médicos e pacientes, passando pelo comércio de medicamentos e falta de alternativas as drogas disponíveis no mercado (WANNMACHER, 2004).

O padrão de resistência a drogas dos isolados coagulase positiva de origem humana identificados neste trabalho estão demonstrados nas figuras 10, 12, 14 e 16 e os de origem animal têm o seu perfil de resistência demonstrado nas figuras 17 a 20. Nas figuras 9, 11, 13 e 15 observou-se o perfil de resistência dos *Staphylococcus* spp. onde pode-se perceber maior resistência aos derivados β -lactâmicos, principalmente, penicilina e ampicilina.

5.3. PERFIL DE RESISTÊNCIA A DROGAS DE ISOLADOS DE *STAPHYLOCOCCUS* SPP. PROVENIENTES DOS SERES HUMANOS NAS COMUNIDADES ESTUDADAS

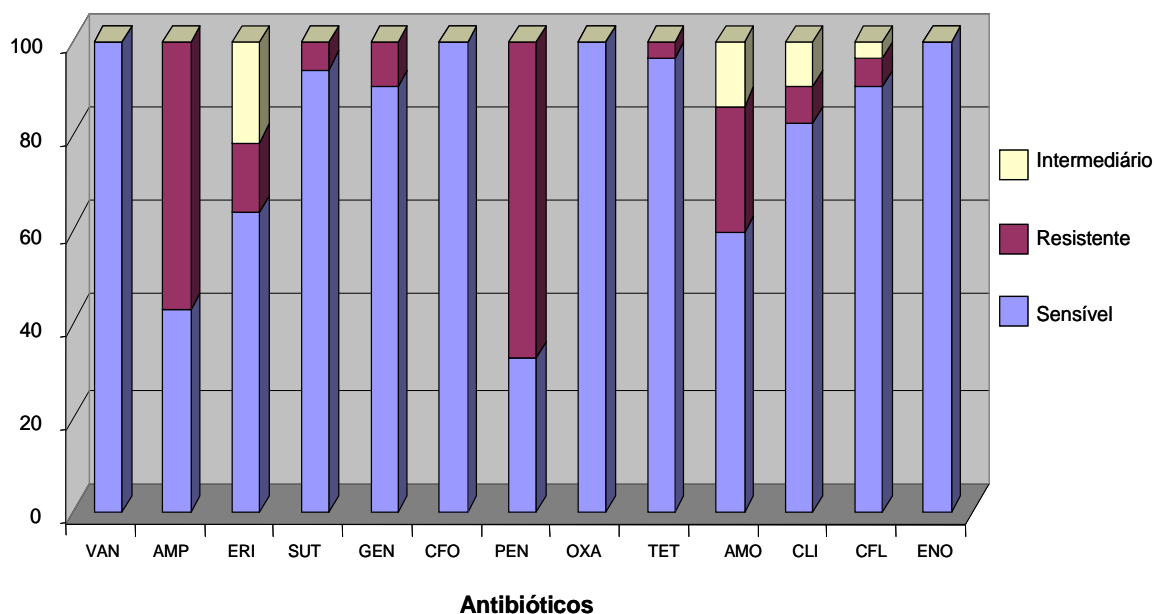


Figura 9 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de seres humanos na comunidade de Arraial.

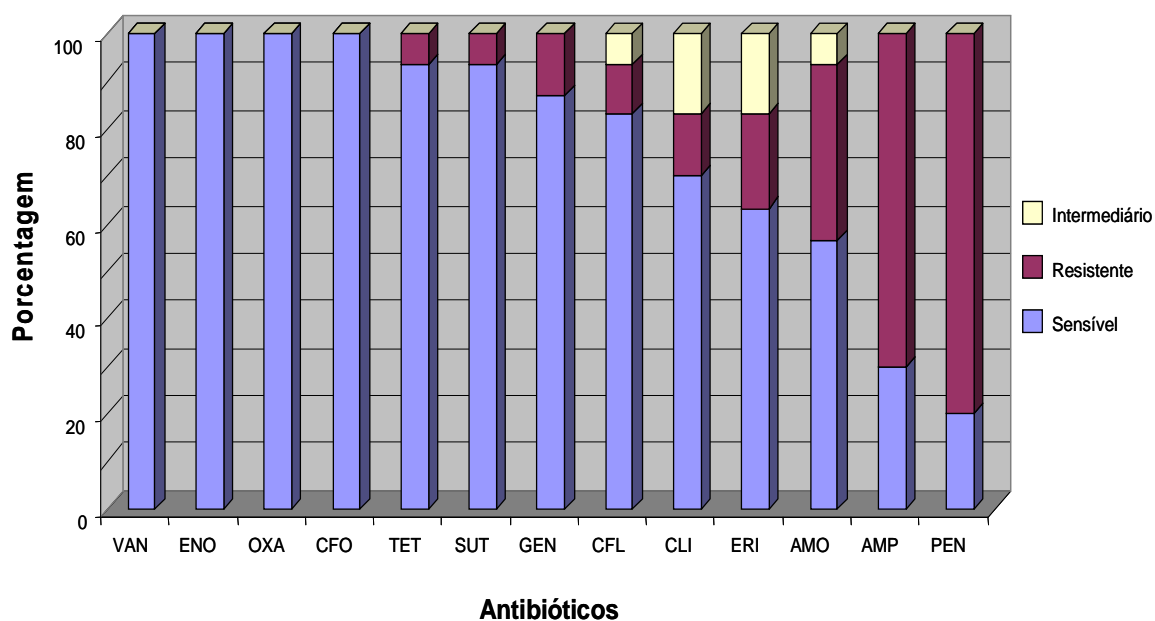


Figura 10 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus coagulase* positiva de seres humanos na comunidade de Arraial.

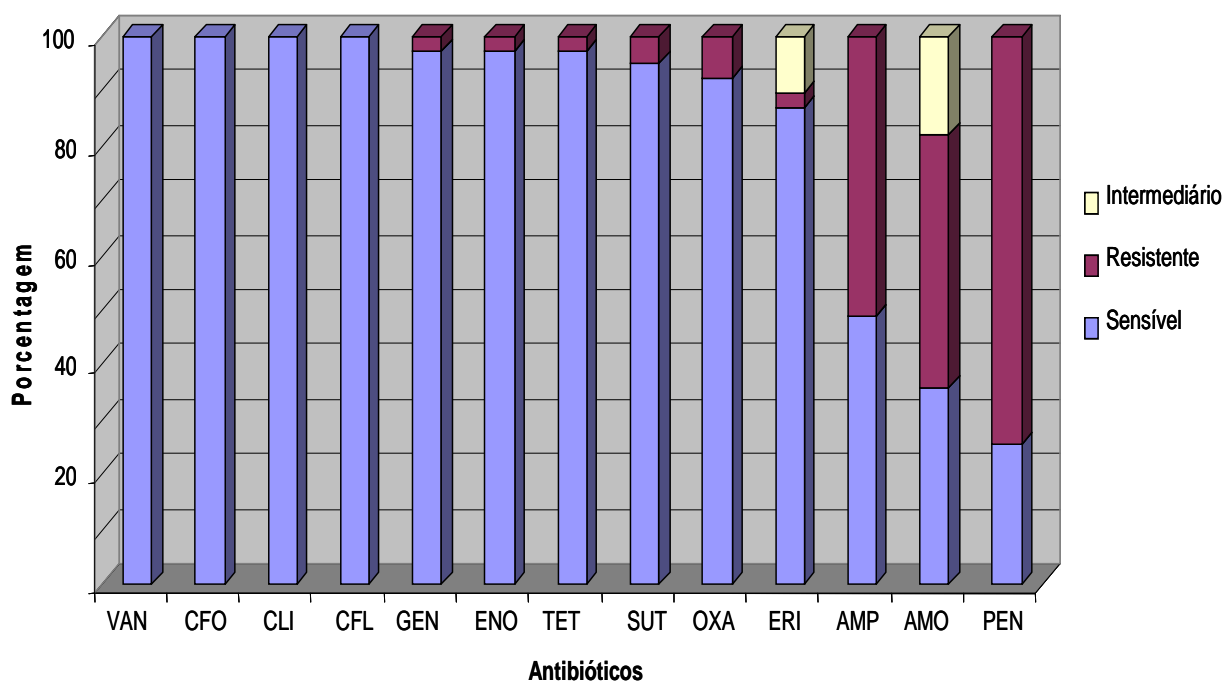


Figura 11 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de seres humanos na comunidade de Lagoa de Cima.

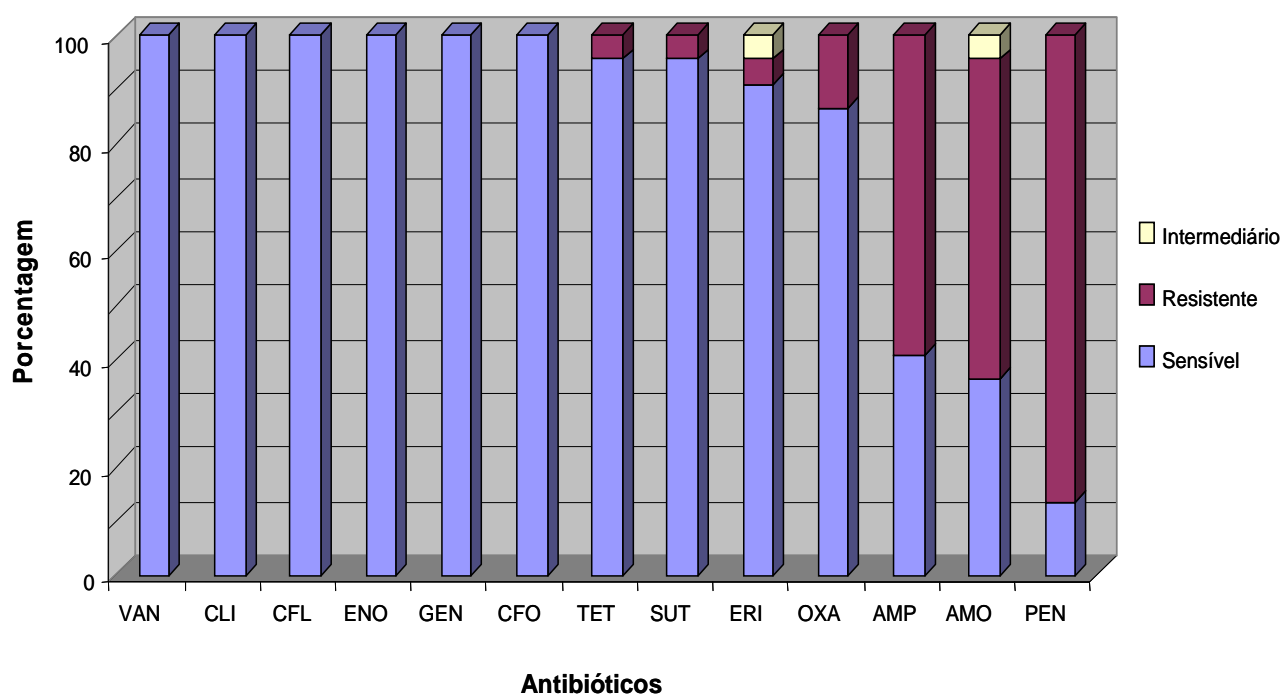
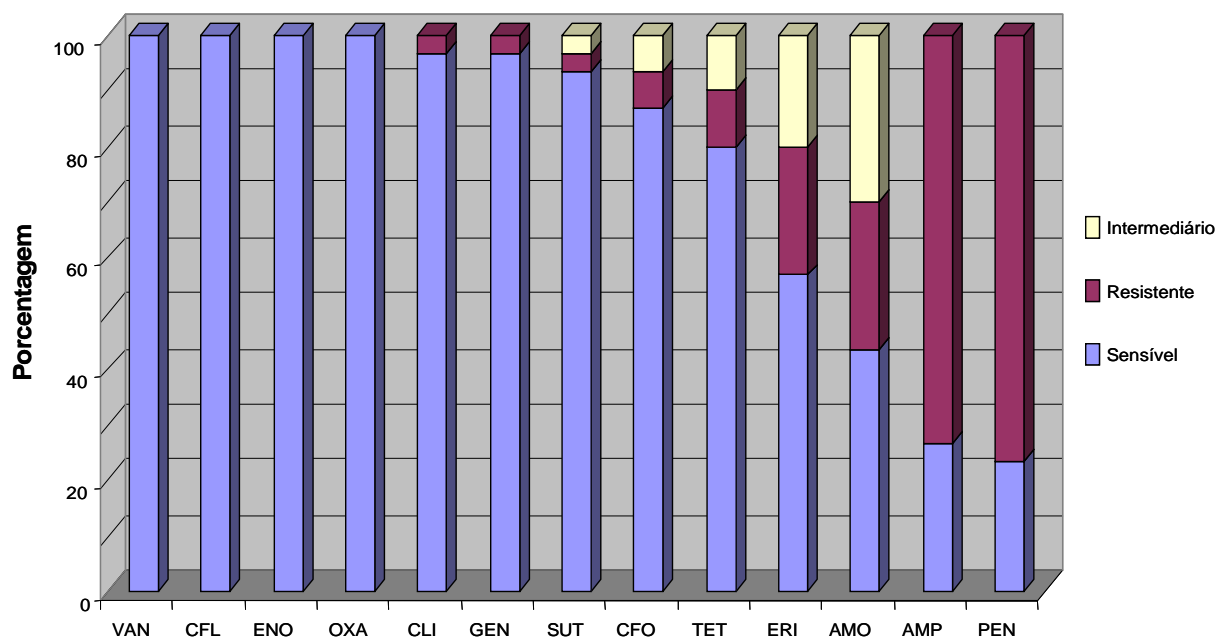
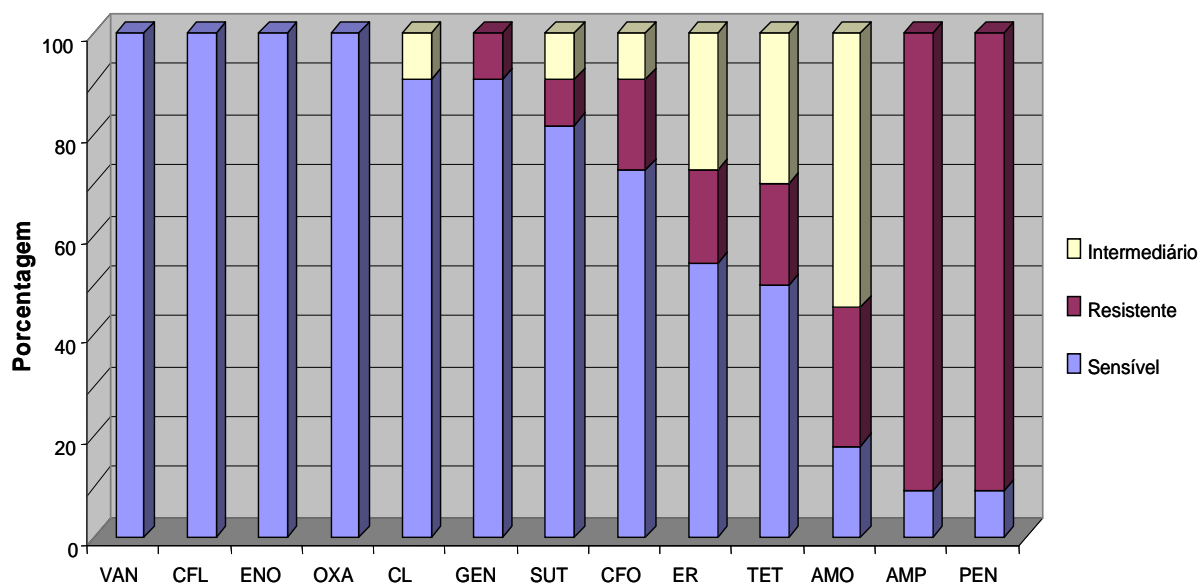


Figura 12 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva de seres humanos na comunidade de Lagoa de Cima.



Antibióticos

Figura 13 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de seres humanos na comunidade de Parque Santuário.



Antibióticos

Figura 14 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus coagulase positiva* de seres humanos na comunidade de Parque Santuário.

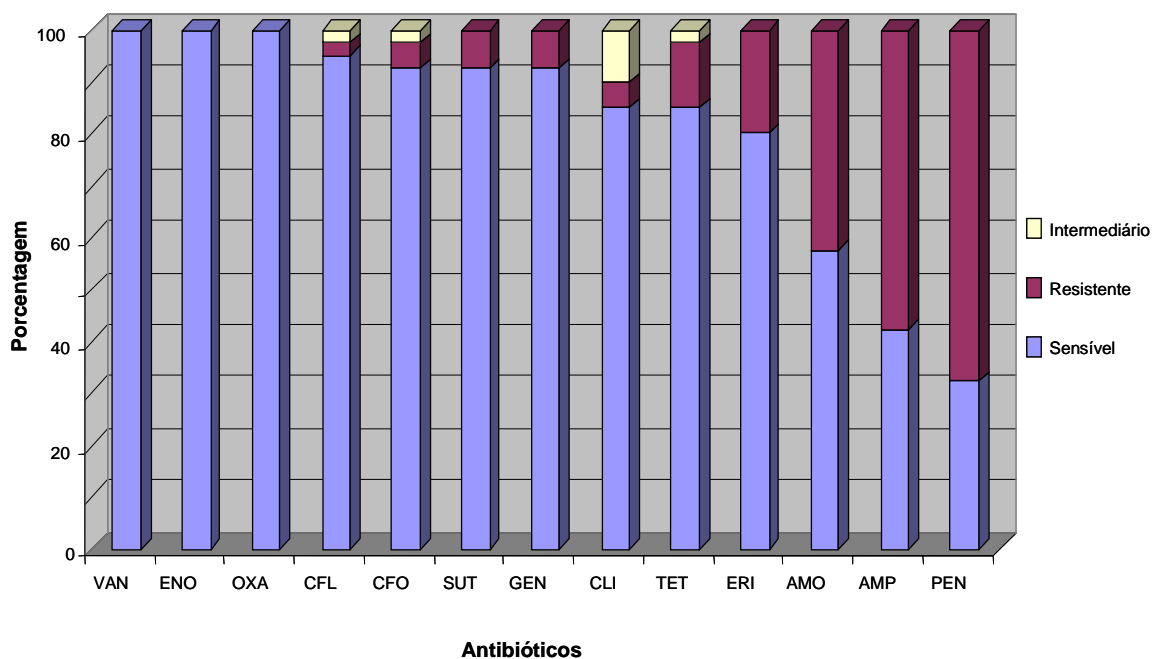


Figura 15 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de seres humanos na comunidade Matadouro.

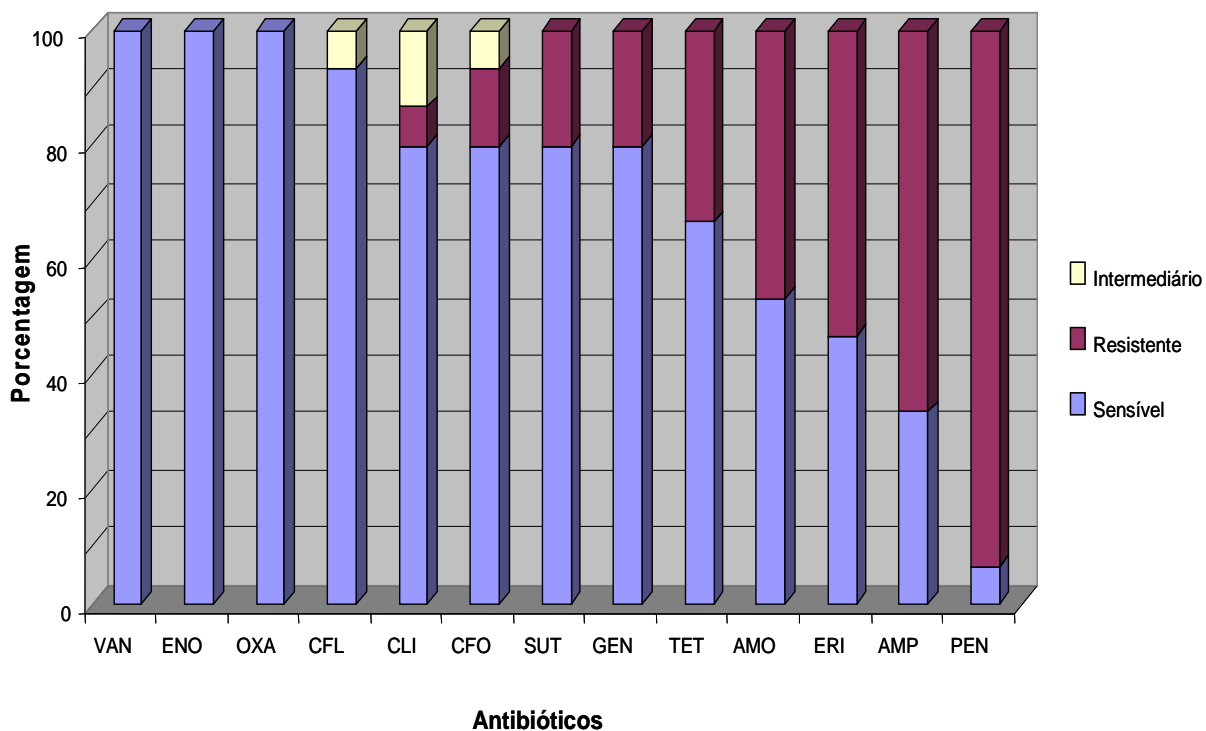


Figura 16 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva de seres humanos na comunidade Matadouro.

Tendo em vista o grau socioeconômico da região alvo do estudo, os resultados observados podem refletir o padrão higiênico-sanitário dos animais, indivíduos e ambientes investigados. A presença de bactérias de caráter zoonótico corrobora com os dados observados nesta pesquisa, onde as características socioeconômicas locais, tais como a renda familiar, são de conhecimento público. Na comunidade de Travessão, 6 a 7% dos chefes de família recebem acima de 5 salários, 45 a 50% abaixo de 1 salário e aproximadamente 45% entre 1 e 5 salários. Na cidade de Campos dos Goytacazes, onde se localiza a comunidade Matadouro, 20 a 25% recebem acima de 5 salários, 30 a 35% abaixo de 1 salário, aproximadamente 40% a 45% entre 1 e 5 salários, ressaltando que a comunidade Matadouro é uma área de favelização dentro da região de maior poder aquisitivo do município. Já no distrito de Ibitioca, localidade de Lagoa de Cima, 2 a 3% dos chefes de família recebem acima de 5 salários, 50 a 55% abaixo de 1 salário e aproximadamente 45% entre 1 e 5 salários (PREFEITURA MUNICIPAL DE CAMPOS DOS GOYTACAZES, 2005).

O perfil de susceptibilidade a antimicrobianos foi de certa forma variável nas comunidades estudadas. Nas comunidades de Arraial e Parque Santuário, no distrito de Travessão, foi observada sensibilidade de 100% às drogas como a vancomicina, oxacilina e enrofloxacina, cefoxitina (na comunidade de Arraial) e cefalotina (em Parque Santuário). Excetuando-se as cefalosporinas, os demais β -lactâmicos aparecem com um alto grau de resistência como no caso da penicilina, ampicilina, amoxicilina e com menor resistência aos isolados a eritromicina, tetraciclina, clindamicina, gentamicina e sulfa+trimetoprim. Estas duas comunidades se encontram localizadas no interior do município, com propriedades adjacentes destinadas à criação de animais, nas proximidades da área rural da cidade.

Segundo AFA (1997), a resistência aos antibióticos é observada na pecuária, em que agentes antibacterianos são utilizados, quase que indiscriminadamente, para a profilaxia, quimioterapia, e para promover o crescimento. Os animais que recebem antibióticos nos alimentos para aumentar ganho de peso, conseguem até 5% de peso a mais do que animais que não recebem antibióticos. A proporção de uso de drogas com a finalidade de aumento de performance animal é superior àquela observada na terapia

de doenças pela medicina humana. Na Dinamarca, em 1994, 24 kg de vancomicina foram utilizados para terapias humanas, enquanto que 24.000 kg da droga semelhante avoparcina foram utilizados na alimentação animal. De 1992 a 1996, Portugal importou uma média de 582 kg de vancomicina por ano para fins médicos e 62.642 kg de avoparcina por ano para a pecuária. Vancomicina e avoparcina têm o mesmo modo de ação, podendo uma conferir resistência a outra (WITTE, 1998). Na comunidade Matadouro observou-se um perfil significativo de resistência frente aos β -lactâmicos, penicilina, ampicilina e amoxicilina, além do perfil de resistência ao macrolídeo eritromicina. O perfil de sensibilidade de 100% foi verificado para vancomicina, enrofloxacin e oxacilina.

Na comunidade de Lagoa de Cima, foi verificado um perfil de resistência a drogas peculiar, quando comparado às demais comunidades, com três isolados de *S. aureus* que apresentaram resistência à oxacilina e um isolado de *Staphylococcus* coagulase-negativa resistente à enrofloxacin. Embora neste trabalho a investigação molecular dos isolados resistentes à oxacilina não tenha sido realizada, o fato de três destes terem apresentado resistência à droga merece uma maior preocupação por se tratar de amostra coletada em comunidade da região. Estas três amostras também apresentaram resistência a outras drogas (penicilina e ampicilina) e foram isoladas de adultos de famílias diferentes dentro da mesma comunidade, possivelmente tratando-se de um clone circulante na região geográfica em questão. É plausível a participação de animais de estimação na circulação destes microrganismos resistentes em Lagoa de Cima, porém maiores investigações são necessárias na origem destes portadores, tais como graus de parentesco e social. O trabalho de Moellering (2006) relata que uma das características de isolados CA-MRSA é o seu perfil de susceptibilidade a outras drogas, o que, geralmente, não ocorre com aqueles isolados de hospitais (HA-MRSA). Os isolados de Lagoa de Cima também foram sensíveis a outras drogas, sendo resistentes a apenas três drogas e sensíveis às outras dez drogas restantes usadas neste estudo.

O elevado perfil de resistência aos β -lactâmicos (penicilina, ampicilina e amoxicilina) foi observado em todas as comunidades estudadas, o que também foi observado por Olowe et al. (2007) ao estudar a susceptibilidade a antimicrobianos em

Osogbo na Nigéria, onde observaram um perfil de resistência a penicilina de 85,7%.

As figuras 9 a 16 ilustram os dados de resistência dos isolados bacterianos encontrados, em seres humanos, em cada uma das comunidades investigadas.

Pode-se observar em todas as comunidades um perfil bacteriano de resistência aos derivados β -lactâmicos, principalmente á penicilina e ampicilina e observa-se também que a vancomicina, oxacilina e a enrofloxacina mantiveram 100% de sensibilidade ao serem testadas frente a estes isolados de *Staphylococcus* provenientes de seres humanos, nas comunidades estudadas.

5.4. PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS DE ISOLADOS DE ANIMAIS NAS COMUNIDADES ESTUDADAS.

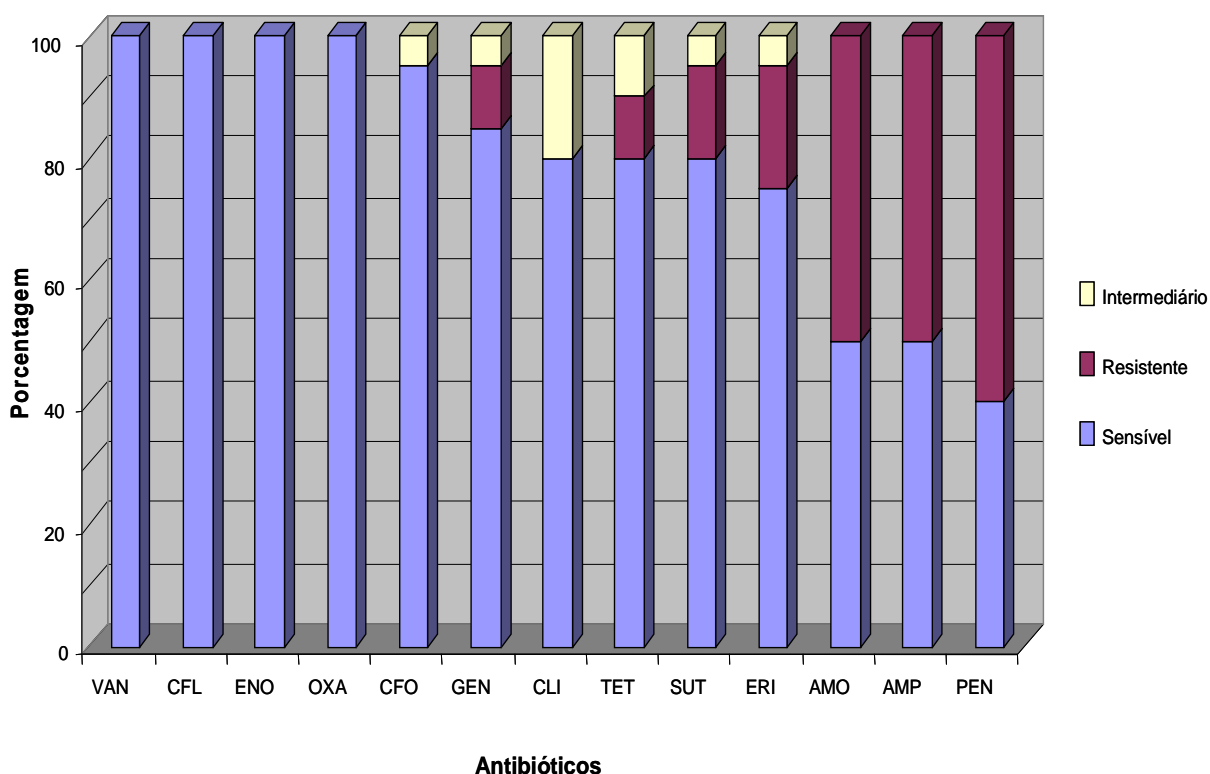
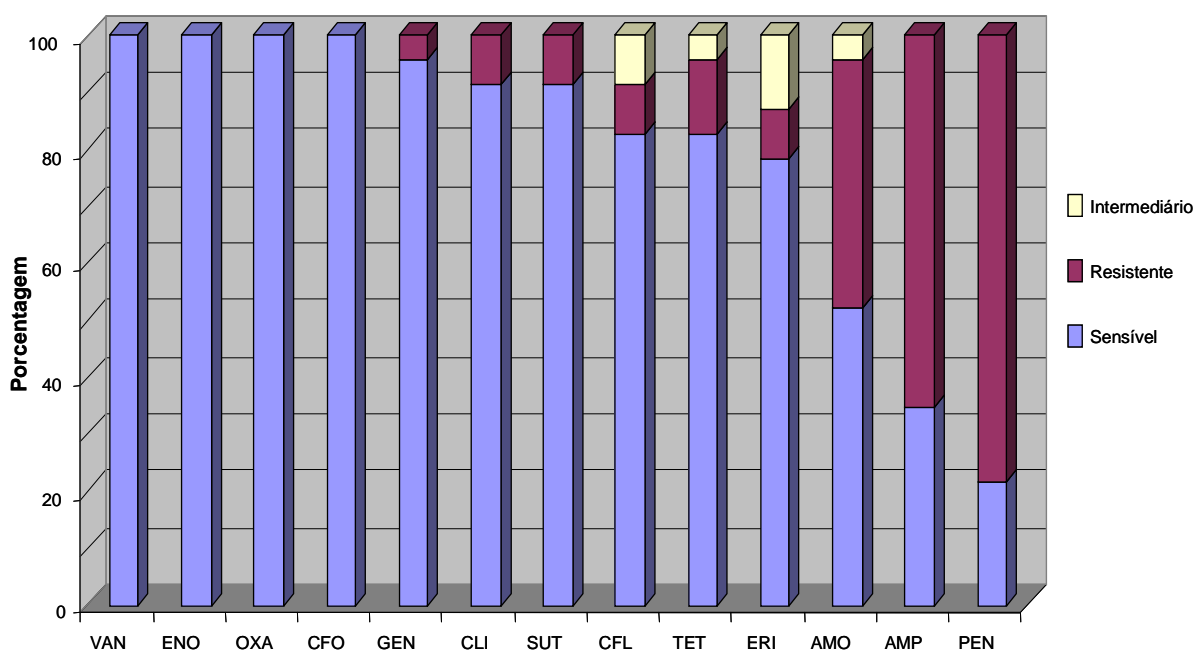
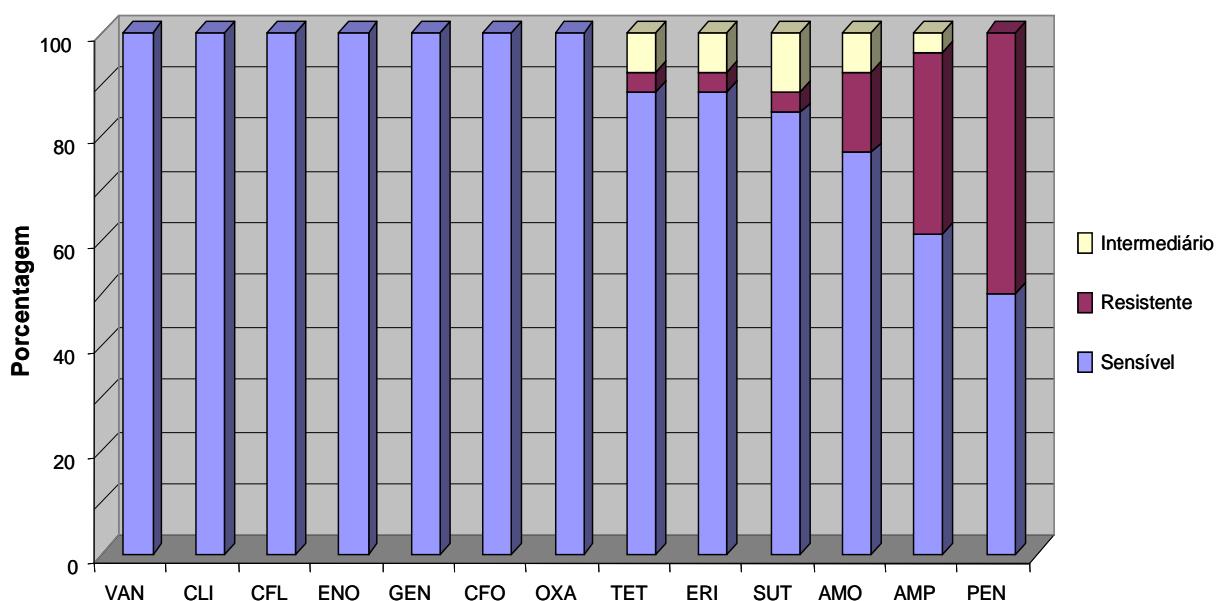


Figura 17 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de animais na comunidade de Arraiá.



Antibióticos

Figura 18 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de animais na comunidade de Lagoa de Cima.



Antibióticos

Figura 19 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de animais na comunidade de Parque Santuário.

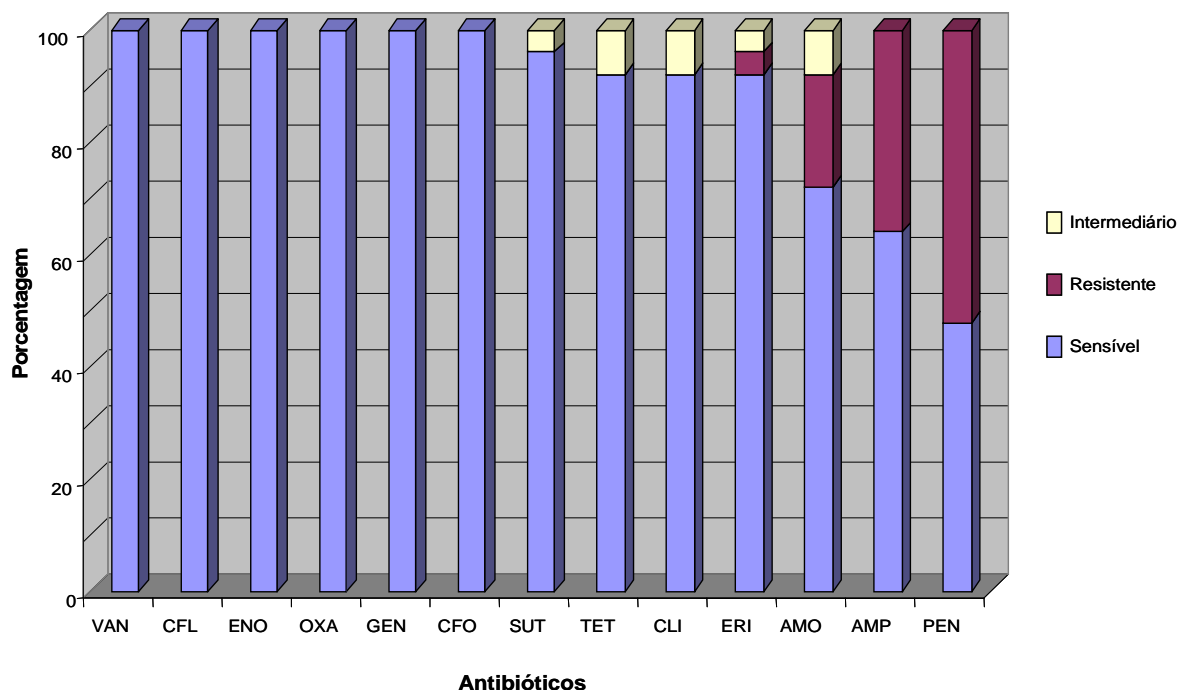


Figura 20 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de animais na comunidade Matadouro.

As figuras 17 a 20 ilustram os dados de resistência dos isolados bacterianos encontrados, em animais, em cada uma das comunidades investigadas.

O perfil de sensibilidade às drogas testadas para os isolados de animais permite inferir que nas comunidades as drogas com maior grau de sensibilidade pelos microrganismos foram vancomicina, enrofloxacina e oxacilina. Peculiaridades quanto à suscetibilidade dentro das comunidades foram observadas, pois 100% dos microrganismos foram sensíveis à cefalotina nas comunidades de Arraial, Parque Santuário e Matadouro. Os microrganismos mostraram 100% de sensibilidade a cefoxitina nas comunidades Parque Santuário e de Lagoa de Cima. A droga gentamicina atuou em 100% dos isolados nas comunidades Parque Santuário e Matadouro e clindamicina na comunidade de Parque Santuário.

Bactérias do gênero *Staphylococcus* isoladas apresentaram resistência contra várias drogas, cujos resultados puderam ser comparados aos de outros autores que descrevem a transmissão destes agentes entre animais e seus proprietários (WEESE et al., 2006; VAN DUIJKEREN, et al., 2008). De acordo com o perfil das bactérias frente

aos diversos antibióticos pode-se inferir que há probabilidade de riscos para as comunidades estudadas neste trabalho.

Vários autores relatam a relação entre os antibióticos usados em animais e o aparecimento de resistências em estirpes bacterianas de importância em afecções humanas e em animais (WITTE, 1998; TORRES e ZARAZAGA, 2002; MACEDO et al., 2007; POETA e RODRIGUES, 2008).

De todas as amostras estafilocócicas testadas o perfil de resistência frente à penicilina foi o mais prevalente, seguido de ampicilina e amoxicilina. O perfil de resistência observado frente a estas três drogas pouco diferenciou daquele observado em outras pesquisas envolvendo animais com doença subclínica ou resultantes de colonização, que mostram o grau de resistência de *S. aureus* em animais de produção (AIRES-DE-SOUSA et al., 2007). Na região alvo de estudo deste trabalho investigações com humanos portadores de infecções estafilocócicas mostraram a presença de *S. aureus* como causa de síndrome do choque tóxico em uma criança de uma comunidade carente de Campos dos Goytacazes, RJ (DE SOUZA CAMPOS FERNANDES et al., 2005). Motta et al. (2000) também na mesma região geográfica alvo deste estudo, investigaram isolados humanos do gênero *Staphylococcus* e identificaram *S. aureus* resistentes à meticilina. O que foi observado em pacientes em uma unidade neonatal de tratamento intensivo, na mesma região, segundo Moussallem et al. (2007), por meio da técnica da PCR, pela detecção do gene *mecA*.

Quando à comparação foi feita entre isolados estafilocócicos de animais domésticos portadores de otites e piodermites, observaram-se diferença no grau de resistência, com perfil diferenciado entre as espécies bacterianas investigadas, principalmente frente aos β -lactâmicos penicilina, ampicilina e amoxicilina (XIMENES et al., 2007). No presente estudo, amostras de animais de diferentes espécies e clinicamente sadios interferiram no compito do nível de detecção e ocorrência de resistência bacteriana, conseqüentemente aumentando o grau de sensibilidade às drogas, provavelmente por se tratarem de isolados provenientes de animais com baixa intervenção veterinária. As drogas mais eficazes contra as cepas isoladas em animais foram a vancomicina, oxacilina e enrofloxacina (100% de sensibilidade). Tais resultados são proporcionalmente compatíveis, com aqueles observados com cepas de *S. aureus*

isolados em outras espécies animais na região estudada (AIRES-DE-SOUSA et al., 2007).

A resistência frente à penicilina em amostras de *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase-negativos isolados de leite de vacas com mastite foi superior ao observado nas amostras de origem animal, isoladas neste estudo, embora a região alvo esteja inserida naquela dos estudos com rebanhos bovinos que avaliaram *S. aureus* multirresistentes (VIEIRA-DA-MOTTA et al., 2000).

Este trabalho foi realizado com o intuito de colher dados sobre a situação dos fatores de riscos em que cidadãos que vivem em locais considerados de alta vulnerabilidade social estão expostos no convívio pelos animais, sejam eles de estimação ou não, que podem carregar microrganismos potencialmente zoonóticos.

5.5. PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Staphylococcus* spp. ISOLADOS DO HOSPITAL DE TRAVESSÃO.

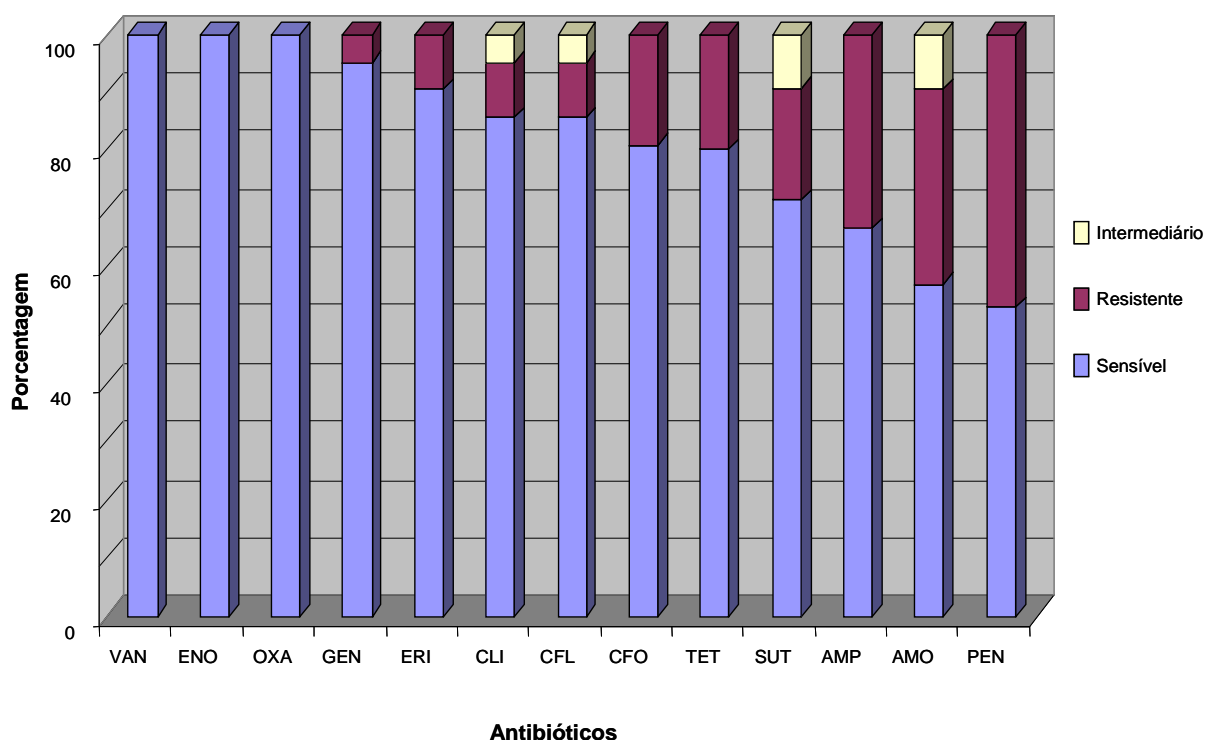


Figura 21 – Perfil de sensibilidade a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. de amostras ambientais.

No hospital investigado foram encontradas amostras de *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativas, sendo observado o perfil de resistência a drogas pela técnica de antibiograma. Entre as drogas de maior resistência estão os beta-lactâmicos penicilina, ampicilina, amoxicilina, cefoxitina e cefalotina, entre outros (figura 21). Embora não tenha sido diagnosticado nenhum isolado resistente a oxacilina, seria importante a pesquisa posterior com métodos moleculares para o gene *mecA*, de resistência à meticilina. Araj et al. (1999) e Shorman et al. (2008) demonstraram isolados atípicos de *Staphylococcus* spp. e *S. aureus* resistentes a meticilina e a outras drogas pelo método de difusão de disco em agar, que não amplificaram o gene *mecA* típico para isolados MRSA. Portanto, é possível que os isolados multirresistentes a drogas encontrados no ambiente hospitalar das comunidades carentes de Campos dos Goytacazes assistidas por este hospital, possam estar entre estas categorias de bactérias. Por estar localizado em uma das comunidades carentes investigadas neste trabalho, o hospital de Travessão apresenta características que podem representar a realidade das infecções mais freqüentes da população local. As classes sociais menos favorecidas foram investigadas no estudo de Hota et al. (2007), em pacientes de um hospital público de Chicago, constatando a circulação do clone CA-MRSA epidêmico, também conhecido como USA300. O uso indiscriminado de antibióticos por parte da população e a sua prescrição inadequada acarretam risco de surgimento de bactérias resistentes, independente da espécie envolvida (WANNMACHER, 2004).

5.6. ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS EM *S. aureus* E *S. intermedius*.

O teste de produção de toxinas foi positivo para quatro amostras, sendo duas amostras positivas para SEA; uma para SEC e uma amostra foi positiva para as toxinas estafilocócicas – SEA, SEB, SEC, SED e TSST-1. O isolamento de *S. aureus* (75%) e *S. intermedius* (25%) toxigênicos no ambiente hospitalar torna-se um fato de grande relevância levando-se em conta o público que freqüenta os diferentes ambientes dentro e fora do hospital nas comunidades assistidas por aquela unidade hospitalar, especialmente o risco de infecção com cepas altamente resistentes constatado por vários autores. Considerando outra população de risco do município estudado, os portadores de HIV, estes resultados com isolados toxigênicos, reforçam a necessidade

de controle nos ambientes hospitalares. Sabe-se que pacientes HIV positivos estão sob risco elevado de morte, em caso de infecção por *S. aureus* (TEIXEIRA et al., 1996). No município de Campos dos Goytacazes no ano de 2004 foi realizado um total de 4.373 exames para HIV, sua positividade foi em torno de 205 (5,71%), incluindo 14 crianças e 16 mulheres grávidas que foram consideradas HIV positivo (PREFEITURA MUNICIPAL DE CAMPOS DOS GOYTACAZES, 2005). Ressaltam-se os dados de pesquisas sobre estas toxinas em rebanhos de bovinos, caprinos e bubalinos na região, onde estas toxinas foram detectadas e que, portanto, podem sugerir riscos à saúde pública por estarem presentes não apenas no leite in natura, mas também em laticínios (VIEIRA-DA-MOTTA et al., 2000; MARIANO et al., 2007, BONNA et al., 2007).

6 – CONCLUSÕES

As zoonoses por bactérias do gênero *Staphylococcus* podem ocorrer nas comunidades estudadas.

A multirresistência a drogas de isolados de *Staphylococcus* spp. foi caracterizada, o que sugere um risco às pessoas nas comunidades estudadas;

Staphylococcus intermedius foi isolado em maior proporção de animais soltos nas ruas, se constituindo em um risco para as comunidades.

Os moradores das comunidades visitadas não são esclarecidos sobre o grau de risco a que estão expostos ao criarem os animais sem condições higiênicas e sem métodos de prevenção.

As drogas Vancomicina e Enrofloxacina demonstraram a maior atividade frente aos isolados de *Staphylococcus* testados de origem animal, humana e ambiente hospitalar.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES DE SOUSA, M., CRISOSTOMO, M.I., SANTOS SANCHES, I., WU, J.S., FUZHONG, J., TOMASZ, A. Frequent Recovery of a Single Clonal Type of Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* from Patients in Two Hospitals in Taiwan and China. *Journal of Clinical Microbiology*, V.41. p.159-163, 2003.

AIRES-DE-SOUSA, M., PARENTE, C.E.S.R., VIEIRA-DA-MOTTA, O., Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from buffalo, bovine, ovine, and caprine milk samples from Rio de Janeiro State, Brazil, *Appl. Environ. Microbiol.* V.73, p. 3845-3849, 2007.

ALBRICH, W. C., HARBARTH, S. Health-care workers: source, vector, or victim of MRSA? <http://infection.thelancet.com>. V. 8, p. 289-301. May 2008.

AMATO NETO, V.; LEVI, G. C.; LOPES, H. V.; MENDONÇA, J. S.; BALDY, J. L. S. Antibióticos na prática médica. 4a ed. São Paulo: Roca, 1994. 283p.

ANJOS, L.A., CASTRO, I.R.R., ENGSTROM, E.N., AZEVEDO, A.M.F. Crescimento e estado nutricional em amostras probabilística de escolares no município do Rio de Janeiro, 1999. *Caderno de Saúde Pública*, V.19, nº 1, p. 171-179, 2003.

ANDRÉ, M.C.D.P.B., SANTOS, P.P., CAMPOS, M.R.H., BORGES, L.J., SERAFINI, Á.B. Utilização do Antibiograma como Ferramenta de Tipagem Fenotípica de *Staphylococcus aureus* Isolados de Manipuladores, Leite Cru e Queijo Minas Frescal em Laticínio de Goiás, Brasil. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, v. 43, suplemento, p. 102-108, 2006.

ANDRADE, G.P., ZELANTE, F., Ocorrência simultânea de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênicos nas mãos, boca e fezes em portadores assintomáticos. *Rev. Saúde Pública*, V. 23, p. 277-284, 1989.

ANTIMICROBIAL FEED ADDITIVES - Government Official Reports, nº.132, Stockholm, Sweden, 1997.

ARAJ, G.F., TALHOUK, R.S., SIMAAN, C.J., MAASAD, M.J. Discrepancies between mecA PCR and conventional tests used for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Antim. Agents*, V.11, p. 47–52, 1999.

ARBUTHNOTT, J. P., COLEMAN, D. C., AZAVEDO, J. S., Staphylococcal toxins in human disease. *J. Appl. Bacteriol.*, V.19, p.101-107, 1990.

ARMAND-LEFEVRE, L., RUIMY, R., ANDREMONT, A., Clonal Comparison of *Staphylococcus aureus* Isolates from Healthy Pig Farmers, Human Controls, and Pigs, *Emerging Infectious Diseases*, V.11, n° 5, p. 711-714. 2005.

ARCHER, G.L., *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci. In: MANDELL, GL, BENNETT, JE, DOLIN, R. Principles and practice of infectious diseases, 4^a ed. New York: Churchill-Livingstone, p.1777-1784, 1995.

ARCHER, G.L., *Staphylococcus aureus*. A well-armed pathogen. *Clin. Infect. Dis.* V. 26. p. 1179-1181. 1998.

ASAO, T., KUMEDA, Y., KAWAI, T., SHIBATA, T., ODA, H., HARUKI, K., NAKAZAWA, H. & KOZAKI, S., An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiol. Infect.* V. 130, p. 33-40, 2003.

ATANASSOVA; V.; MEINDL, A.; RING, C. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham - a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. *International Journal of Food Microbiology, Amsterdam*, v. 68, p. 105-113, 2001.

BAIRD-PARKER, A. C. The Staphylococci: an introduction. *Journal for Applied Bacteriology Symposium Supplement*, p. 1-8, 1990.

BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins, *Int. J. Food. Microbiology*, V. 61, p. 1-10, 2000.

BANCROFT, E. A. Antimicrobial Resistance It's Not Just for Hospitals. *JAMA*, V. 298, n°. 15, p. 1083-1804, October, 2007.

BASCOMB, S.; MANAFI, M. Use of enzyme tests in characterization and identification of aerobic and facultative anaerobic gram-positive cocci. *Clinical Microbiol. Reviews*, V.11, n^o.2, p. 318-340, 1998.

BANNERMAN, T. L. *Staphylococcus, Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; JORGENSEN, J. H.; PFALLER, M. A.; YOLKEN, R. H. Manual of clinical microbiology. 8^a ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. p. 384-404.

BAYLES K.W.; IANDOLO J.J. Genetic and molecular analyses of the gene encoding staphylococcal enterotoxin D. *J. Bacteriology*, V. 171, p. 4799-806, 1989.

BAXTER, M. The association *Pityrosporum pachydermatis* with the normal external ear canal of dogs and cats. *J. Small Animal Practice*. v.17, n^o 4, p. 231- 234, 1976.

BERGDOLL, M.S.; BORJA, C. R.; AVENA, R. M. Identification of a new enterotoxin as enterotoxin C, *J. Bacteriology*, V.90, p.1481-1485. 1965.

BERGDOLL, M.S.; BORJA, C. R.; ROBBINS, R. N.; WEISS, K. F. Identification of enterotoxin E. *Infect. Immun.*, V.4, p. 593-595. 1971.

BERGDOLL, M.S.; SURGALLA, M. J.; DACK, G. M. Staphylococcal enterotoxin: Identification of a specific precipitating antibody with enterotoxin neutralizing property. *J. Immunol.*, V.83, p. 334-338, 1959.

BERGDOLL, M.S., CRASS, B. A., REISER, R. F., ROBBINS, R. N., DAVIS, J. P. A new staphylococcal enterotoxin, enterotoxin F, associated with toxic-shock-syndrome *Staphylococcus aureus* isolates, *Lancet*, V1, p. 1017-21, 1981.

BERGDOLL M.S. In: Adlam C., Easmon C. S. F., editors. Enterotoxins Staphylococci and staphylococcal infections, *London: Academic Press*, V.2, p. 560-598, 1983.

BERGEY'S Manual of Systematic Bacteriology. Peter H. A. Sneath Baltimore: Williams & Wilkins, V.2, p.1013-35. 1986.

BETLEY M.J.; MEKALANOS J.J., Staphylococcal enterotoxin A is encoded by phage. *Science*, V. 229, p. 185-187, 1985.

BLACK, J. G. - *Microbiologia: Fundamentos e Perspectivas*. 4ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.370-419.

BLUE, J.L.; WOOLEY, R.E. Antibacterial sensitivity patterns of bacteria isolated from dogs with otitis externa. *J. American Veterinary Medical Association*. v.171, nº 4, p.362-363, 1977.

BONNA, I.C.F.; VARGAS, A.P.S. ; TEIXEIRA, G.N.; MOTTA, O.V. *Staphylococcus* coagulase-negativos resistentes a drogas isolados de leite de búfalas (*Bubalus bubalis*). *Rev. Bras. de Ciência Veterinária*, V. 14, p. 117-121, 2007.

BRITO, D. V. D.; VON DOLINGER, E. J. O.; MACHADO, F. L.; ABDALLAH, V. O. S; GONTIJO FILHO, P.P., Formação de biofilme em amostras de *Staphylococcus epidermidis* isoladas de sepse relacionada a cateter vascular central em neonatos críticos. *Arq. Ciênc. Saúde*. V.14, nº 2, p. 76-80. 2007.

CARLETON, H.A., DIEP, B.A., CHARLEBOIS, E.D., SENSABAUGH, G.F., PERDREAU-REMYNGTON, F., Community-adapted methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): population dynamics of an expanding community reservoir of MRSA. *J Infect Dis*. nº 190, p1730–1738. 2004.

CARPENTER, C.F., CHAMBERS, H.F., Daptomycin: Another novel agent for treating infections due to drug-resistant Gram-positive pathogens. *Clin. Infect. Dis*. V.38, nº 7, p. 994-1000. 2004.

CASMAN, E.P., Further serological studies of staphylococcal enterotoxin. *J Bacteriol.*, V.79, p. 849-56, 1960.

CASMAN, E. P.; BENNETT, R. W.; DORSEY, A. E.; ISSA, J. A. Identification of a fourth staphylococcal enterotoxin, enterotoxin D, *J. Bacteriol.*, V.94, p.1875-1882, 1967.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention., Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* —Minnesota and North Dakota, 1997–1999. *Morb. Mortal. Wkly. Rep*. V. 48. p.707–710. 1999.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin or soft tissue infections in a State Prison-Mississippi, 2000. *MMWR Morb Mortal Weekly Rep*; V.50, nº 42, p. 919-922, 2001.

CDC – Centers for Diseases Control and Prevention. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin - United States, 2002. *Morb. Mortal. Wkly Rep.* V.51, nº 26, p. 565-7, 2002.

CDC – Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* skin infections among tattoo recipients --- Ohio, Kentucky, and Vermont, 2004—2005. *Weekly.* V.5, nº 24. p.677-679. 2006.

CERCENADO, E., CUEVAS, O., MARÍN, M., BOUZA, E., TRINCADO, P., BOQUETE, T., PADILLA, B., VINDEL, A., Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Madrid, Spain: transcontinental importation and polyclonal emergence of Pantone–Valentine leukocidin-positive isolates. *Diag. Microb. and Infec. Dis.* V.61 p. 143–149. 2008.

CHAMBERS, H.F. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev.* V.10, p. 781-791.1997.

CONCEIÇÃO, L.G.; FABRIS, V.E. Piodermite canina: parte I. Cães e Gatos. nº 85, p. 35-39, 1999.

CORBELLA, X.; DOMINGUEZ, M. A.; PUJOL, M.; AYATS, J.; SENDRA, M.; PALLARES, R.; ARIZA, J.; GUDIOL, F. *Staphylococcus aureus* nasal carriage as a marker for subsequent staphylococcal infections in intensive care unit patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, V.16, p.351-357. 1997.

COSGROVE, S.E., SAKOULAS, G., PERENCEVICH, E.N., SCHWABER, M.J., KARCHMER, A.W., CARMELI, Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* V. 36, nº 1, p. 53-59, 2003.

CPI – CUBICIN PRODUCT INFORMATION: European Medicines Agency. <http://www.emea.eu.int/humandocs/Humans/EPAR/cubicin/cubicin.html>. 2006. acessado em 1 de janeiro, 2009.

CUEVAS, O., CERCENADO, E., VINDEL, A., GUINEA, J., SÁNCHEZ-CONDE, M., SÁNCHEZ-SOMOLINOS, M., BOUZA, E., Evolution of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp in Spain: five prevalence studies, 1986–2002. *Antimicrob. Agents. Chemother.* V. 48. p. 4240–4245. 2004.

CUEVAS O, MARCOS C, TRINCADO P, Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain (2002–2006): molecular epidemiology and antimicrobial resistance patterns. In: Abstracts of the Forty-Seventh Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago IL, 2007. Washington, DC; USA: American Society for Microbiology. Abstract C2-148. 2007b.

CUNHA, M.L.R.S., LOPES, C.A.M., RUGOLO, L.M.S.S., CHALITA, L.V.A.S., significância clínica de estafilococos coagulase-negativa isolados de recém-nascidos, *J. Pediatr.*, V. 78, p. 279-288, 2002.

CUNHA NETO, A., SILVA C.G.M., STAMFORD, T.L.M., *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil. *Ciênc. Tecnol. Alimentos*. Campinas, V.22, nº 3, p. 263-271, 2002.

DAFRA - Department for Environment Food and Rural Affairs, Zoonoses: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Animals. <http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/zoonoses/mrsa.htm>. acessado em 21 de novembro de 2008. 2008.

DAILEY, L., COOMBS, G.W., O'BRIEN, F.G., PEARMAN, J. W., CHRISTIANSEN, K. GRUBB, W. B., AND RILEY, T. V., Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Western Australia. *Emerg Infect Dis*. nº 11 p1584–1590. 2005.

DE BUYSER, M. L., DUFOUR, B., MAIRE, M., LAFARGE, V., Implication of milk and milk products in foodborne diseases in France and in different industrialised countries, *Int. J. Food Microbiol.*, V. 67, p. 1-17, 2001.

DE SOUZA CAMPOS FERNANDES, R.C., VIEIRA-DA-MOTTA, O., MEDINA-ACOSTA, E.C., Relato de Caso: Síndrome do choque tóxico de origem estafilocócica por enterotoxina C, *Pediatria Atual*, V.18, nº. 2, p.16-20, 2005.

DEVRIESE, L.A., VAN DAMME, L.R., FAMEREE, L., Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zbl Vet Med B.V.* 19, p.598-605. 1972.

DICKSON, D.B; LOVE, D.N. Bacteriology of the horizontal ear canal of dogs. *J. Small Animal Practice*. nº 24, p. 413-421, 1983.

DINGES, M. M., ORWIN, P. M., SCHLIEVERT, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*, *Clin Microbiol Rev*, V.13, nº1, p. 16-34, 2000.

DONLAN, R.M., COSTERTON, J.W., Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* V.15, nº 2, p.167-193. 2002.

EPSTEIN, P.R. Emerging diseases and ecosystem instability: new threats to public health, *Am. J. Public Health* V. 85, p. 168-172, 1995.

FAPERJ, Secretaria de Ciência e Tecnologia e Inovação – Secti. Atlas 1, Os Problemas, Estado do Rio de Janeiro. 2003 18p.

FERENS, W.A., GOFF, W.G., DAVIS, W.C., FOX, L.K., DEOBALD, C., HAMILTON, M.J., BOHACH, G.A. Induction of the type 2 cytokines by a staphylococcal enterotoxin superantigen. *J. Natural Toxin*, V.7, nº 3, p. 193-213, 1998.

FILE Jr., T. M. Overview of resistance in the 1990s. *CHEST*, V.115 p. 3-8. Supplement. 1999.

FLEMING, A. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation o *B. influenzae*. *British Journal of Experimental Pathology*, n. 10, p. 226-236, 1929. Reimpressão *Review of Infectious Diseases*, v. 2, p. 129-139, 1980.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. Microbiologia de los alimentos. Zaragoza: Ed. Acribia S. A. 681p., 1993.

FRANCO, B. D. G. M. & LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 184p, 2002.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAFF, M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu, 1996.

FUCHS, P.C., BARRY, A.L., BROWN, S.D. Daptomycin susceptibility tests: Interpretive criteria, quality control, and effect of calcium on in vitro tests. *Diagn Microbiol Infect Dis*, V.38, nº 1, p 51-58. 2000.

FURUYA, E. Y.; LOWY, F. D. Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting. *Nature Reviews Microbiology*, V.4, p. 36-45, 2006.

FUTAGAWA-SAITO, K.; SUZUKI, M.; OHSAWA, M.; OHSHIMA, S.; SAKURAI, N.; BA-THEIN, W.; FUKUYASU, T.; Identification and prevalence of an enterotoxin-related gene, *se-int*, in *Staphylococcus intermedius* isolates from dogs and pigeons. *Journal of Applied Microbiology*, V.96, p. 1361–1366. 2004.

GUARDABASSI, L., DAVID, S. S., LLOYD, H. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* V. 54, p. 321–332, 2004.

GANDRA, E. A., Identificação de *Staphylococcus aureus*, *S. Intermedius* e *S. Hyicus* através de testes bioquímicos e da amplificação por PCR de seqüências dos genes *Coa* e *Nuc*. Universidade Federal de Pelotas Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel" Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Pelotas, 99p, 2003.

GARRITY, G.M., WINTERS, M., SEARLES, D.B. Taxonomic Outline of the Prokaryotic Genera. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilson. Release 1.0, Apr. 2001. Acesso em: 10 janeiro de 2009. Disponível em: <http://www.bergeys.org/>

GRAZIANO KU, GRAZIANO RW. Limpeza, desinfecção e esterilização de artigos odontológicos e cuidados com o ambiente. In: Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar (APECIH). Controle de infecção na prática odontológica. São Paulo. p. 11-24. 2000.

GEARY, C. JORDENS, J. Z. RICHARDSON, J. F. HAWCROFT D. M. Epidemiological typing of coagulase negative staphylococci from nosocomial infections. *J. Med. Microbiol.*, v.46, p.195-203, 1997.

GILBERT, D. N.; MOELLERING Jr., R. C.; SANDE, M. A. The Sanford: Guia para terapia antimicrobiana. 33 ed. Rio de Janeiro: EPUC, 2003. 150p.

HARBARTH, S., FRANCOIS, P., SCHRENZEL, J., FANKHAUSER-RODRIGUEZ, C., HUGONNET, S., KOESSLER, T., HUYGHE, A., PITTET, D., Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Switzerland. *Emerg. Infect. Dis.* V.11 p.962–965, 2005.

HÁJEK, V. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int J Syst Bacteriol.* V. 26 p.401–408, 1976.

HARVARD WORKING GROUP. New an resurgent diseases. The failure of attempted eradication. *The ecologist.* V 25, nº1, january/february, 1995.

HIROOKA, E. Y., MÜLLER, E. E., FREITAS, J. C., VICENTE, E., YOSHIMOTO, Y., BERGDOLL, M. S., Enterotoxigenicity of *Staphylococcus intermedius* of canine origin *International Journal of Food Microbiology*, V.7, nº 3, p. 185 -191, dezembro, 1988.

HOTA, B.; ELLENBOGEN, C.; HAYDEN, M. K.; AROUTCHEVA, A.; RICE, T. W.; WEINSTEIN, R. A. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Skin and Soft Tissue Infections at a Public Hospital. *Arch Intern Med.* V.167. p. 1026-1033. 2007.

ISAACS D. A ten year, multicentre study of coagulase negative staphylococcal infections in Australasian neonatal units. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal.* V. 88, nº 2, p. 89-93. 2003.

JARRAUD, S.; PEYRAT, M.A.; LIM, A. TRISTAN, A., BES, M., MOUGEL, C., ETIENNE, J., VANDENESCH, F., BONNEVILLE, M., LINA, G. *egc*, a high prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*, *J. Immun.*, V.166, p. 669-677, 2001.

JAY, J. M. Gastroenterites estafilocócica. In: *Microbiologia moderna de los alimentos.* 4 ed. Zaragoza: Editorial Acribia S. A., Cap. 19, p.537-563. 1992.

JOHNSTON, C.P., COOPER, L., RUBY, W., CARROLL, K.C., COSGROVE, S.E., PERL, T.M., Epidemiology of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections among healthcare workers in an outpatient clinic. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* V.27, p.1133–1136. 2006.

JORGENSEN, H.J., MORK, T., RORVIK, L.M., The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. *Journal of Dairy Science* 88, 3810- 3817. 2005.

JOUSSON, O, DI BELLO, D., VANNI, M, CARDINI, G, SOLDANI, G, PRETTI, C, INTORRE, L. Genotypic versus phenotypic identification of staphylococcal species of canine origin with special reference to *Staphylococcus schleiferi* subsp. *Coagulans* *Vet. Microbiol.* 2007. 123: 238–244.

KENNY, K., REISER, R. F., BASTIDA-CORCUERA, F. D., NORCROSS, N. L. Production of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin by bovine mammary isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, V. 31, p. 706-707, 1993.

KIM, H. B., PARK, W. B., LEE, K. D., CHOI, Y. J., PARK, S. W., OH, M., KIM, E.C., CHOE, K. W., Nationwide Surveillance for *Staphylococcus aureus* with reduced Susceptibility to Vancomycin in Korea. *Journal of Clinical Microbiology*. V. 41, nº 6 p. 2279–2281. 2003.

KING, M.D., HUMPHREY, B.J., WANG, Y.F., KOURBATOVA, E.V., RAY, S.M., BLUMBERG, H.M., Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA 300 clone as the predominant cause of skin and soft-tissue infections. *Ann. Intern. Med.* V.144, p. 309–317. 2006.

KISS, G.; RADVANYI, S.; SZIGETI, G.; LUKATS, B.; NAGY, G. New combination for the therapy of canine otitis externa. II. Efficacy in vitro and in vivo. *Journal of Small Animal Practice*. v.2, nº 38, p.51-56, 1997.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN Jr., W. C. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 5a ed. Philadelphia: Lippincott, 1997. 1395p.

KONEMAM, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR., W. C., *Diagnóstico Microbiológico*. Medsi Editora Médica e Científica Ltda, 1466p., 2001.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR, W. C. - *Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido*. 5. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2002.

KRAVETZ, J.D., FEDERMAN, D.G., Cat-Associated Zoonoses, *Arch. Intern. Med.*, V. 162, p. 1945-1952, 2002.

LAGANAS, V., ALDER, J., SILVERMAN, J.A., In vitro bactericidal activities of daptomycin against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* are not mediated by inhibition of lipoteichoic acid biosynthesis. *Antimicrob Agents Chemother*, V.47 n° 8, p2682-2684. 2003.

LANCELLOTTI, M. Estudo epidemiológico de *Staphylococcus* spp. em ambientes, água e portadores sadios e determinação da sensibilidade a antimicrobianos. Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal. 108p. 2006.

LEE, A.C.; ROBBINS, R.N.; BERGDOLL, M.S. Isolation of specific and common antibodies to staphylococcal enterotoxins A and E by affinity chromatography. *Infect. Immun.*, V.21, p. 387-391, 1978.

LEE, C.Y.; SCHMIDT, J.J.; JOHNSON-WINEGAR, A.D., SPERO, L., IANDOLO, J. J. Sequence determination and comparison of exfoliative toxin A and B genes from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology* Washington, V. 169, p. 3901-3909, 1987.

LEE, S.K.; MCMILLAN, D.D.; OHLSSON, A.; PENDRAV, M.; SYNNESE A.; WHYTE, R.; CHIEN, L.Y.; SALE, J., Variations in practice and outcomes in the Canadian NICU network: 1996-1997. *Pediatrics*. V.106, n° 5. p. 1070-1079. 2000.

LETERTRE, C.; PERELLE, S.; DILASSER, F., FACH, P., Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the *egc* cluster of *Staphylococcus aureus*, *J. Appl. Microbiol.*, V.95, p. 38-43, 2003.

LILENBAUM, W., NUNES, E. L. C. & AZEREDO. M. A. I. Prevalence and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the skin surface of clinically normal cats. *Lett. Appl. Microb.* V.27, p. 224-228, 1998.

LIM, S., JOO, Y., MOON, J., LEE, A., NAM, H., WEE, S., KOH, H.. Molecular typing of enterotoxigenic *S. aureus* isolated from bovine mastitis in Korea. *J. Vet Med. Sci.* V.66 n° 5, p. 581-584, 2004.

LINDE, H., WAGENLEHNER, F., STROMMENGER, B., DRUBEL, I., TANZER, J., REISCHL, U., RAAB, U., HÖLLER, C., NABER, K.G., WITTE, W., HANSEN, F., SALZBERGER, B., LEHN, N., Healthcare-associated outbreaks and community-

acquired infections due to MRSA carrying the panton-valentine leucocidin gene in southeastern Germany. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* V. 24, p. 419–422. 2005.

LIVERMORE, D.M. Quinupristin/dalfopristin and linezolid: Where, when, which and whether to use? *J. Antimicrob. Chemother.* V. 46, nº 3. p. 347-350. 2000.

LLORCA, I., GAGO, S., SANMARTÍN, J., SÁNCHEZ, R. Infectious endocarditis caused by *Staphylococcus intermedius* in a patient infected with HIV. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* V.10, nº 5, p.317-8. 1992.

LOPES, H. R. Avaliação da produção de enterotoxinas estafilocócicas A, D e E. Rio de Janeiro: Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio do Janeiro, 68p,1990.

LOUREIRO, B. A.; DE MORAES, B. A.; QUADRA, M.R.R.; PINHEIRO, G. S.; SUFFYS, P. N.; ASENSI, M.D. Molecular Epidemiology of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from newborns in a Hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, V.95. nº 6, p.777-782, 2000.

LOW, D.E., SCHMIDT, B.K., KIRPALANI, H.M, MOODIE, R., KREISWIRTH, B., MATLOW, A., et al., An endemic strain of *Staphylococcus haemolyticus* colonizing and causing bacteremia in neonatal intensive care unit patients, *Pediatrics*, V. 89 p. 696-700, 1992.

MACÊDO, N.R., MENEZES, C.P.L., LAGE, A.P., RISTOW, L. E., REIS, A., GUEDES, R.M.C. Detecção de cepas patogênicas pela PCR multiplex e avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de leitões diarreicos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, V.59, p.1117-1123, 2007.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. Biology of microorganism. 8ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997, 986p.

MAIJALA, R., BECKER, H., HENNEKINE, J.A., MANTIS, A. Opinion of the Scientific Committee on veterinary measures relating to public health on staphylococcal enterotoxins in milk products, particularly cheeses. European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General, 73p, 2003.

MARIANO, F. A.; FOLLY, M. M.; TEIXEIRA, G. N.; CARMO, L. S.; MOTTA, O. V. Produção de enterotoxinas por *Staphylococcus* isolados de leite de cabras do estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. de Ciên. Vet.*, V. 14, p. 105-109, 2007.

MARRACK, P.; KAPPLER, J. The staphylococcal enterotoxins and their relatives. *Science*, V. 248, p. 705-711, 1990.

MARTIN, S. E.; MYERS, E. R. *Staphylococcus aureus*. In: HUI, Y. H.; ORHAM, R.; MURREL, K. D.; CLIVER, D. O. Foodborne disease handbook. Diseases caused by bacteria, New York: Marcel Decker, p. 345-394, 1994.

MARTINEAU, F., PICARD, F. J., LANSAC, N., MÉNARD, C., ROY, P. H., OUELLETTE, M., BERGERON, M. G. Correlation between the resistance genotype determined by Multiplex PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob. Agents Chemother*, V.44, nº 2, p. 231-8, 2000

MATSUDA, H.; TOJO, M.; FUKUI, K.; IMORI, T.; BABA, E. The aerobic bacterial flora of the middle and external ears in normal dogs. *Journal of Small Animal Practice*. nº 25, p. 269-274, 1984.

MATSUNAGA, T., KAMATA, S., KAKIICHI, N., UCHIDA, K. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from peracute, acute and chronic bovine mastitis. *J Vet Med Sci*, V. 55, nº 2, p. 297-300, 1993.

MEAD, P.S., SLUTSKER, L., DIETZ, V., MCCRAIG L.F., BRESEE, J.S., SHAPIRO, C., GRIFFINS, P.M., TAUXE, R.V., Food-related illness and death in the United States, *Emerg. Infect. Dis.*, nº 5, p. 605-625, 1999.

MEHROTRA, M., WANG, G., JOHNSON, W. M., Multiplex PCR for Detection of Genes for *Staphylococcus aureus* Enterotoxins, Exfoliative Toxins, Toxic Shock Syndrome Toxin 1, and Methicillin Resistance, *Journal of Clinical Microbiology*, Mar., p. 1032–1035. 2000.

MELTER, O.; AIRES DE SOUSA, M.; URBASKOVA, P.; JAKUBU, V.; ZEMLICKOVA, H.; DE LENCASTRE, H. Update on the Major Clonal Types of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the Czech Republic. *J Clin Microbiol*, V.41. p.4998-5005, 2003.

MIRAGAIA, M.; COUTO, I.; PEREIRA, S. F. F.; KRISTINSSON, K. G.; ESTH, H.; JARLOV, J. O. Molecular Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones: Evidence of Geographic Dissemination. *J. Clin. Microbiol.*, V.40. p. 430-438. 2003.

MOELLERING, R.C. Jr., The growing menace of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann Intern Med* V.144. p. 368–370. 2006.

MONDAY, S. R. & BOHACH, G. A. Properties of *Staphylococcus aureus* enterotoxins and toxic shock syndrome toxin-1. In: Alouf, J.E., Freer, J.H., *The Comprehensive Sourcebook of Bacterial Protein Toxins*, London: Academic Press, cap. 33, p. 589-610, 1999.

MONTESINOS, I.; SALIDO, E.; DELGADO, T.; LECUONA, M.; SIERRA, A., Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a university hospital in the Canary Islands. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, V.24. nº 9. p.667-772. 2003.

MOREIRA, D.D.O.; MORAIS, V.; VIEIRA-DA-MOTTA, O.; CAMPOS FARINHA, A. E. C.; TONHASCA JR, A. Ants as Carriers of Antibiotic-Resistant Bacteria in Hospitals. *Neotropical Entomology* V. 34 nº6, p. 999-1006, 2005.

MORGAN, M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? *J. Antimicrobial Chemoth.* V. 62, nº 6, p.1181-1187. 2008.

MOTTA, O.V.; FERNANDES, R.C.C.; ACOSTA, E. M., Isolamento de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) de pacientes na cidade de Campos dos Goytacazes-RJ. In: IV Congresso da Sociedade de Pediatria do Estado do Rio de Janeiro, 2000, Rio de Janeiro, 2000.

MOUSSALLEM, B.C.; KURY, C.M.H.; MEDINA-ACOSTA, E. Detecção dos genes *mecA* e *femA*, marcadores moleculares de resistência a metilina, em *Staphylococcus* spp. isolados de pacientes admitidos em uma Unidade Neonatal de Tratamento Intensivo. *Revista Científica da FMC*. V. 2, nº 2, p.2-9. 2007.

MURAOKA, J. Y; SIQUEIRA C. E. H.; DOS SANTOS, A.; OLIVEIRA T. C.R. M. Avaliação da Enterotoxigenicidade de Linhagens de Estafilococos Coagulase Negativa. XI Encontro Anual de Iniciação Científica - Maringá – PR Universidade Estadual de Maringá/Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. 2002.

MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. Manual of Clinical Microbiology, 7^a Ed. Washington: American Society for Microbiology, 1420p. 1999.

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 8th ed. (M2-A8), 2003.

NOVAK, F. R.; HAGLER, A.N.; FIGUEIREDO, A. M.S. Prevalência de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) produtores de leite humano ordenhado e seu crescimento em colostro humano *J. bras. ginecol.* V.108, nº 10, p. 339-45, 1998.

OLIVEIRA, D.C., TOMASZ, A., DE LENCASTRE, H., The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated mec elements. *Microb. Drug. Resist.* V. 7, p.349–361. 2001.

OLIVEIRA JÚNIOR, F.; FONSECA, M.; RAMALHO, M.; BREDT, C.; ABBOUD, C.; SILVA, A.; CAVALCANTE, N. Infecções de corrente sanguínea em pacientes adultos infectados pelo HIV. *APECIH J.*, 2, 1999.

OLIVEIRA, L.C., BRILHANTE, R.S.N., CUNHA, A.M.S., CARVALHO C.B.M., Perfil de isolamento microbiano em cães com otite média e externa associadas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, V.58, nº 6, p.1009-1017, 2006.

LOWE, O.A., ENIOLA, K.I.T., LOWE, R.A., OLAYEMI, A.B. Antimicrobial Susceptibility and Beta-lactamase detection of MRSA in Osogbo. SW Nigéria. *Nature and Science*, V.5, nº 3. p. 44-48. 2007.

OMOE, K. et al., Biological properties of staphylococcal enterotoxin-like toxin type R. *Infect. Immun.*, V.72, p. 3664-3667, 2004.

OMOE, K., IMANISHI, K., HU, D.L., KATO, H., FUGANE, Y., ABE, Y., HAMAOKA, S., WATANABE, Y., NAKANE, A., UCHIYAMA, T., SHINAGAWA, K., Characterization of novel staphylococcal enterotoxin-like toxin type P. *Infect. Immun.*, V.73, p. 5540-5546, 2005.

ORWIN, P. M.; FITZGERALD, J. R.; LEUNG, D. Y. M.; GUTERREZ, J. A.; BOACH, G. A.; SCHLIEVERT, P. M. Characterization of *Staphylococcus aureus* Enterotoxin L. *Infection and Immunity* Amsterdam, V. 71, nº 5, p. 2916-2919, 2003.

PASTEUR, L. De l'extension de la théorie des germes á l'etiologie de quelques maladies comunes. *Bull Acad Natl Med. Sér IX* p. 435-47. 1880. In: Keim, L.S. Mapeamento dos estafilococos coagulase negativo no hospital universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense, no período de 1998 a 2002. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense. Niterói, Rio de Janeiro. 2005. 134p.

PEREIRA, M.L., CARMO, L.S., SANTOS, E.J., BERGDOLL, M.S. Staphylococcal food poisoning from cream-filled cake ina a metropolitan area of South-Eastern Brazil. *Revista de Saúde Pública*. V. 28, nº 6, p. 406-9. 1994.

PETERSEN, A.D.; WALKER, R.D.; BOWMAN, M.M.; SCHOTT, H.C.; ROSSER, E.J. Jr. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus intermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine skin and ear samples over a 6-year period (1992-1997). *Journal of the American Animal Hospital Association*. V.38, p.407-413, 2002.

PETERSSON, A. C.; KAMME, C.; MIÖRNER, H. Disk with high oxacillin content discriminates between methicillin-resistant and borderline methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in disk diffusion assays using a low salt concentration. *J. Clin. Microbiol.*, V.37, nº 6, p. 2047-50, 1999.

PETINAKI, E., DIMITRACOPOULOS, G., SPILIOPOULOU, I. Decreased affinity of PBP3 to methicillin in a clinical isolate of *Staphylococcus epidermidis* with borderline resistance to methicillin and free of the *mecA* gene *Microb. Drug Resist.*, V. 7, nº 3, p. 297-300, 2001.

POETA, P., RODRIGUES, J. Detecção da resistência a antibióticos de bactérias isoladas de casos clínicos ocorridos em animais de companhia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, nº 2, p.506-508, 2008.

PREFEITURA MUNICIPAL DE CAMPOS DOS GOYTACAZES. Campos dos Goytacazes – Perfil 2005. 2005. 180p.

RAAB, U., KAHLAU, D., WAGENLEHNER, F., REISCHL, U., EHRENSTEIN, V., LEHN, N., HÖLLER, C., LINDE, H., Prevalence of and risk factors for carriage of panton-valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among residents and staff of a German nursing home. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* V.27, p. 208–211. 2006.

RAPINI, L.S.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; CARMO, L.S.; VERAS, J.F.; SOUZA, M.R., Presence of *Staphylococcus* strains producer of enterotoxins and toxic shock toxin syndrome isolated from goat's cheese handlers. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* V.57, nº6 2005.

REICHENHEIM, M.E., HARPHAM, T. Perfil intracomunitário da deficiência nutricional: estudo de crianças abaixo de cinco anos numa comunidade de baixa renda do Rio de Janeiro (Brasil). *Rev Saúde Pública.* V.24 nº 1, p. 69-79, 1990.

RILEY, T.V., PEARMAN, J.W., ROUSE, I.L., Changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. *Med. J. Aust.* V.163. p. 412–414. 1995.

ROBBINS, R., GOULD, S., BERGDOLL, M.S. Detecting the enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains. *Applied Microbiology*, V. 28, nº 6, p. 946 – 950. 1974.

SADER, H. S.; PIGNATARI, A. C.; HOLLIS, R. J.; JONES, R. N. Evaluation of Interhospital Spread of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in São Paulo, Brasil, using Pulsed-Field Gel electrophoresis of Chromosomal DNA. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, V.15, nº 5, p. 320-323, 1995.

SADER, H. S.; WATTERS, A. A.; FRITSCH, T. R.; JONES, R.N. Daptomycin antimicrobial activity tested against methicillin-resistant staphylococci and vancomycin-resistant enterococci isolated in European medical centers (2005). *BMC Infectious Diseases*, V.7, nº 29, 2007.

SAIMAN, L., O'KEEFE, M., GRAHAM, P.L., WU, F., SAÏD-SALIM, B., KREISWIRTH, B., LASALA, A., SCHLIEVERT, P.M., DELLA-LATTA, P., Hospital transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among postpartum women. *Clin. Infect. Dis.* nº 37 p1313–1319. 2003.

SAMY, A.; SHEHAB, EL-DIN.; EL-SAYED, I.; EL-SHAFFEY.; MAMAD, R ; AHMAD MODATHER, M. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Problem in the Burns Unit. *Egyptian of Journal Plastic and Reconstructive Surgery*, V.27. p.1-10, 2003.

SASAKI, A.; SHIMIZU, A.; KAWANO, J.; WAKITA, Y.; HAYASHI, T.; OOTSUKI, S. Characteristics of *Staphylococcus intermedius* isolates from diseased and healthy dogs. *Journal of Veterinary Medicine Science*. V. 67, nº 1, p.103-106, 2005.

SATO, H.; MATSUMORI, Y.; TANABE, T. SAITO, H.. SHIMIZU, A., KAWANO, J., A new type of staphylococcal exfoliative toxin from a *Staphylococcus aureus* strain isolated from a horse with phlegmon. *Infection and Immunity*, V. 62, nº 9, p. 3780-3785, 1994.

SAX, H., POSFAY-BARBE, K., HARBARTH, S., FRANCOIS, P., TOUVENEAU, S., PESSOA-SILVA, C., SCHRENZEL, J., DHARAN, S., GERVAIX, A., PITTET, D., Control of a cluster of community-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in neonatology. *J. Hosp. Infect.* V.63: p.93–100. 2006.

SEKHON, B.S., GILL, R.S., BHULLAR, M.S. Effect of quality of milk on the mortality and growth rate of weaned buffalo calves. *Indian J. Dairy Sci.*, V.37, nº 4, p. 373-377, 1984.

SHORMAN, M.A., ATOOM, A.M., N. M. ABUHARFEIL, N.M., AL-MAJALI, A.M. Identification of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Methicillin Resistant Coagulase-Negative *Staphylococcus* (CoNS) in Clinical Settings. *Am. J. Inf. Dis.*, V. 4 nº 2 : p.156-161, 2008.

SILVA, J. C. R.; *Zoonoses e Doenças Emergentes Transmitidas por Animais Silvestres*, Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens/ABRAVAS. <http://www.abravas.org.br>, 2004.

SILVA, W. P. Caracterização fenotípica e genotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite de vacas com mastite subclínica e de outras fontes em propriedades produtoras de leite. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1998.

SILVERMAN, J.A., PERLMUTTER, N.G., SHAPIRO, H.M. Correlation of daptomycin bactericidal activity and membrane depolarization in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, V. 47, n° 8. p2538-2544. 2003.

SIMOR, A. E.; OFNER-AGOSTINI, M.; BRYCE, E.; GREEN, K.; McGEER, A.; MULVEY, M. The Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program. The evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian Hospitals: the results of five years of national surveillance. *Can. Med. Assoc. J.* V.165, p.21-26, 2001.

SOLA, C., GRIBAUDO, G., VINDEL, A., PATRITO, L., BOCCO, J. L. Identification of a Novel Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Epidemic Clone in Cordoba, Argentina, Involved in Nosocomial Infections. *J. Clin. Microbiol.*, V.40. p.1427-1435, 2002.

STEENBERGEN, J.N., ALDER. J., THORNE, G.M., TALLY, F.P., Daptomycin: A lipopeptide antibiotic for the treatment of serious Gram-positive infections. *J. Antimicrob. Chemothe.r.*, V.55, n° 3, p283-288. 2005.

STEFANI, S., VARALDO, P.E., Epidemiology of methicillin-resistant staphylococci in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* V.9, p.1179–1186. 2003.

SU, Y.C., WONG, A.C.L. Identification and purification of a new staphylococcal enterotoxin, *H. Appl. Environ. Microbiol.* V.61, p.1438-1443, 1995.

SU, Y.C.; WONG, A.C.L. Current Perspectives on Detection of Staphylococcal Enterotoxins. *Journal of Food Protection*, V. 60, p. 195-202, 1997.

TAKEUCHI, S., ISHIGURO, K., IKEGAMI, M., KAIDOH, T., HAYAKAWA, Y. Production of toxic shock syndrome toxin by *S aureus* isolated from mastitic cow's milk and farm bulk milk. *Veterinary microbiology*, V. 59, p. 251-258, 1998.

TAMBIC, A.; POWER, E. G. M.; TAMBIĆ, T.; SNUR, I.; FRENCH, G. L. Epidemiological analysis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Zagreb Trauma Hospital using a randomly Amplified Polymorphic DNA- typing method. *J. Clin. Microbiol.*, V.18. p. 335-340, 1999.

TANNER, M.A.; EVERETT, C.L.; YOUVAN, D.C. Molecular phylogenetic evidence for noninvasive zoonotic transmission of *Staphylococcus intermedius* from a canine pet to a human. *Journal of Clinical Microbiology*. v38, nº 4, p.1628-1631, 2000.

TATFENG, Y.M.; USUANLELE, M.U; ORUKPE, A.; DIGBAN, A.K.; OKODUA, M OVIASOGIE, F.; TURAY, A.A. Mechanical transmission of pathogenic organisms: the role of cockroaches. *J. Vect. Borne Dis.*, V. 42, p.129-134, 2005.

TATINI, S.R., WESALA, W.D., JESESKI, J.J., MORRIS, H.A. Production of staphylococcal enterotoxin A in blue, brick, mozzarella, and swiss cheeses. *J Dairy Sci*, V. 56, nº. 4, p. 429-35, 1973.

TAVARES, W. Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos, 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1996, 792p.

TEIXEIRA, L.A.; LOURENÇO, M.C.S.; FIGUEIREDO, A.M.S. Emergence Of A Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clone Related To The Brazilian Epidemic Clone iii::B:A Causing Invasive Disease Among Aids Patients In Brazilian Hospital. *Microb. Drug Resistance*, V. 2, p. 393-399, 1996.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 6. ed. São Paulo: Artmed,. 827 p. 2002.

TOPLEY, W.W.C., WILSON, G.S. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. 6th ed. London: E. Arnold; 1976. p.764-801.

TORRES, C.; ZARAZAGA, M. Antibióticos como promotores del crecimiento en animales. vamos por el buen camino? *Gac. Sanit.*, V.16, p.109-112, 2002.

TRANter, H. S. Food borne illness. Foodborne staphylococcal illness. *Lancet*, V. 27, p. 1044-1046, 1990.

TRISTAN, A., BES, M., MEUGNIER, H., LINA, G., BOZDOGAN, B., COURVALIN, P., REVERDY, M.E., ENRIGHT, M.C., VANDENESCH, F., ETIENNE, J., Community-acquired MRSA in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* V.13 p.594–600. 2007.

VAN BELKUM, A., MELLES, D.C., PEETERS, J.K., VAN LEEUWEN, W.B., VAN DUIJKEREN, E., HUIJSDENS, X.W. Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* sequence type 398 in pigs and humans. *Emerg. Infect. Dis.* V.14. p. 479–83. 2008.

VANDENESCH, F., NAIMI, T., ENRIGHT, M.C., LINA, G., NIMMO, G.R., HAFFERNAN, H., LIASSINE, N., BES, M., GREENLAND, T., REVERDY, M.E. ETIENNE, J., Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton–Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg. Infect. Dis.* V.9, p978–984. 2003.

VAN DUIJKEREN, E.; HOUWERS, D.J.; SCHOORMANS, A.; BROEKHUIZEN-TINS, M.J.; IKAWATY, R.; FLUIT, A.C.; WAGENAAR, J.A. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* between humans and animals. *Vet Microbiol.* V.128, n.1-2. p.213-215. 2008.

VAN DUIJKEREN, E., WOLFHAGEN, M.J.H.M., BOX, A.T.A., HECK, M.E.O.C., WANNET, W.J.B., FLUIT, C. Human-to-Dog Transmission of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases.* V. 10, nº 12, p. 2235-2237. 2004.

VIEIRA-DA-MOTTA, O., DONATELE, D.M., OLIVEIRA, P.R., FOLLY, M.M., *Staphylococcus aureus* sensíveis à metilina provenientes de leite mastítico no estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Ciên. Vet.* V. 7, p.123-126. 2000.

VON EIFF, C., A. W. FRIEDRICH, G. PETERS, K. BECKER. Prevalence of genes encoding for members of the staphylococcal leukotoxin family among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* V.49. p.157–162. 2004.

VON EIFF, C.; REINERT, R. R.; KRESKEN, M.; BRAUERS, J.; HAFNER, D.; PETERS, G. Nationwide German multicenter study on prevalence of antibiotic

resistance in staphylococcal bloodstream isolates and comparative in vitro activities of quinupristindalfopristin. *J. Clin. Microbiol.*, V.38. nº 8. p.2819-2823, 2000.

VOSS, A., AND B. N. DOEBBELING. The worldwide prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Int. J. Antimicrob. Agents*. V.5, p. 101–106, 1995.

VUONG, C., GÖTZ, F., OTTO, M., Construction and Characterization of an *agr* Deletion Mutant of *Staphylococcus epidermidis*. *Infection and Immunity*, V. 68, nº. 3, p. 1048-1053. 2000.

XIMENES, F.H.B., VIEIRA-DA-MOTTA, O., CARVALHO, W.M., BRANCO, A.T., TEIXEIRA, G.N. Susceptibilidade a antimicrobianos de Isolados de *Staphylococcus* spp. oriundos de lesões cutâneas e otite de animais domésticos em Campos dos Goytacazes-RJ. *Rev.Univ. Rural, Sér Ciên Vida*, V.27, p. 203-205, 2007.

YAMAGUCHI, T.; NISHIFUJI, K.; SASAKI, M. FUDABA, Y., AEPFELBACHER, M., TAKATA, T., OHARA, M., KOMATSUZAWA, H., AMAGAI, M., SUGAI, M., Identification of the *Staphylococcus aureus* etd pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and EDIN-B. *Infection and Immunity*. V. 70, nº10, p. 5835- 5845, 2002.

YAMASHITA, K.;SHIMIZU, A.; KAWANO, J.; UCHIDA, E.; HARUNA, A.; IGIMI, S. Isolation and characterization of Staphylococci from externa auditory meatus of dogs with or without otitis externa with special reference to *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* isolates. *Journal of Veterinary Medicine Science*.V.67, nº 3, p.263-268, 2005.

YARWOOD, J.M., MCCORMICK, J.K., PAUSTIAN, M.L., ORWIN, P.M., KAPUR, V., SCHLIEVERT, P.M. Characterization and expression analysis of *Staphylococcus aureus* pathogenicity island 3, *J. Biol. Chem.*, V. 277, p. 13138-13147, 2002.

YORK, M. K.; GIBBS, L.; CHEHAB, F.; BROOKS, G.F. Comparison of PCR detection of *mecA* with standard susceptibility testing methods to determine methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J. Clin. Microbiol.*, V.34. nº 2. p.249-253. 1996.

ZECCONI, A.; CESARIS, L.; LIANDRIS, E.; DAPRA, V.; PICCININI R.; Role of several *Staphylococcus aureus* virulence factors on the inflammatory response in bovine mammary gland. *Microbial Pathogenesis* V.40, p.177–183, 2006.

ZSCHÖCK, M., BOTZLER, D., BLÖCHER, S., SOMMERHÄUSER, J., HAMANN, H. P. Detection of genes for enterotoxins (*ent*) and toxic shock syndrome toxin-1 (*tst*) in mammary isolates of *Staphylococcus aureus* by polymerase-chain-reaction. *International Dairy Journal* V.10, p. 569-574, 2000.

ZSCHÖCK, M., RIBE, K., SOMMERHÄUSER, J. Occurrence and Clonal relatedness of *sec/tst*-gene positive *Staphylococcus aureus* isolates of quartermilk samples of cows suffering from mastitis. *Letters in Applied Microbiology*, V.38, p. 493-498, 2004.

WANG, J. T.; CHEN-CHUN, Y.; YANG , T. L.; CHANG, C. S., Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Taiwan. *Diag. Microbiol. and Infec. Dis.* V.42, p.199-203. 2002.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida? *Organização Pan-Americana da saúde/Organização Mundial da saúde.* V.1 n 4. p.1-6. 2004

WEESE, J.S., DICK, H., WILLEY, B.M., MCGEER, A., KREISWIRTH, B.N., INNIS, B., LOW, D.E., Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household, *Veterinary Microbiology*, V. 115, p. 148-155, 2006.

WISPLINGHOFF, H., BISCHOFF, T., TALLENT, S.M., SEIFERT, H., WENZEL, R.P., EDMOND, M.B. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals. *Clin. Infect. Dis.*,V. 39, nº 3, p. 309-317, 2004.

WITTE, W. BIOMEDICINE: Medical Consequences of Antibiotic Use in Agriculture. *Science*.V.279. nº 5353, p. 996 – 997. 1998.

ANEXOS

Anexo 1 – Tabelas (A e B) com as espécies e subespécies de *Staphylococcus*, respectivamente, segundo Bannerman (2003).

Tabela A – Espécies de *Staphylococcus* spp.

<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. caprae</i>	<i>S. vitulinus</i>
<i>S. chromogenes</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. cohnii</i>	<i>S. equorum</i>
<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. kloosii</i>	<i>S. gallinarum</i>	<i>S. muscae</i>	<i>S. felis</i>
<i>S. piscifermentans</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. delphini</i>	<i>S. hycus</i>	<i>S. hominis</i>
<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. sciuri</i>	<i>S. pasteurii</i>	<i>S. succinus</i>	<i>S. condimenti</i>
<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. arlettae</i>	<i>S. carnosus</i>	<i>S. lentus</i>	<i>S. fleurettii</i>
<i>S. warneri</i>	<i>S. xylosus</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. lutrae</i>

Tabela B – Subespécies de *Staphylococcus* spp.

<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. capitis</i>
subespécie <i>aureus</i>	subespécie <i>anaerobius</i>	subespécie <i>capitis</i>	subespécie <i>urealyticus</i>
<i>S. cohnii</i>	<i>S. cohnii</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. schleiferi</i>
subespécie <i>cohnii</i>	subespécie <i>urealyticus</i>	subespécie <i>schleiferi</i>	subespécie <i>coagulans</i>
<i>S. hominis</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i>
subespécie <i>hominis</i>	subespécie <i>novobiosepticus</i>	subespécie <i>bovis</i>	subespécie <i>saprophyticus</i>
<i>S. carnosus</i>	<i>S. carnosus</i>	<i>S. sciuri</i>	<i>S. sciuri</i>
subespécie <i>carnosus</i>	subespécie <i>utilis</i>	subespécie <i>sciuri</i>	subespécie <i>carnaticus</i>
<i>S. sciuri</i>			
subespécie <i>rodentium</i>			

Anexo 2 – Ficha de autorização para participação no projeto.



Atestado de Doação de Amostras Microbiológicas de Cavidade Nasal

Projeto *Staphylococcus* spp.

Declaro para os devidos fins que eu, _____,
 morador da comunidade de _____ do Município de Campos dos
 Goytacazes/RJ.

Estou ciente do projeto sobre bactérias e desejo participar doando uma amostra, através de um swab da cavidade nasal para colaborar com o projeto a ser realizado pelo Laboratório de Sanidade Animal, setor de Microbiologia no Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Campos, / /2008.

 Assinatura

Endereço: _____

Av. Alberto Lamego, 2000 - Parque Califórnia - Campos dos Goytacazes/ RJ - CEP: 28013-602
 Tel.: (22) 2726-1552/1679 - Fax: (22) 2726-1549 - e-mail: olney@uenf.br

UNIVERSIDADE PÚBLICA DE QUALIDADE – DIREITO DO CIDADÃO, DEVER DO ESTADO