

DETECÇÃO FENOTÍPICA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA COM ÊNFASE NA PRODUÇÃO DE BETALACTAMASES DE AMPLO ESPECTRO EM ENTEROBACTÉRIAS ENVOLVIDAS NA ETIOLOGIA DA MASTITE AMBIENTAL

Cristine da Cunha Giugni¹; Gabrielli Stefaninni Santiago²; Naiara de Miranda Bento Rodrigues³ & Shana de Mattos de Oliveira Coelho⁴

1. Bolsista PROIC, discente do curso de Medicina Veterinária, IV/UFRRJ; 2. Doutorando em Ciências Veterinárias, CPGCV/UFRRJ; 3. Mestrando em Ciências Veterinárias, CPGCV/UFRRJ, 4. Professor do Instituto de Veterinária, DMIV/UFRRJ.

Palavras-chave: Enterobactérias; mastite; resistência; betalactamases.

Introdução

A mastite bovina é uma doença complexa multifatorial e é considerada como resultado da interação entre o agente infeccioso, o animal e o ambiente de ordenha (BRITO et al., 2009). Dentre os principais patógenos causadores da mastite bovina ambiental, destacam-se as enterobactérias. A resistência antimicrobiana dificulta o controle da mastite bovina e a disseminação da resistência em bactérias Gram negativas, assim como os possíveis fatores que levariam ao surgimento de isolados resistentes, ainda não têm representado uma questão relevante para as autoridades relacionadas à área da saúde. A produção de betalactamases é o mais importante mecanismo de resistência contra agentes beta-lactâmicos encontrado em bactérias Gram negativas (SOUSA Jr et al., 2004). O conhecimento do perfil de resistência permite um melhor monitoramento epidemiológico do rebanho, promovendo assim a implementação de boas técnicas de manejo baseadas no rastreamento destes isolados.

Metodologia

Foram realizadas visitas técnicas no ano de 2014 a uma fazenda localizada no município de Barra do Pirai-RJ. Um “pool” de cada vaca positiva para o teste do CMT (Califórnia Mastitis Test) foi coletado durante três semanas consecutivas nas estações do inverno e primavera. Na primeira semana, também foram coletadas amostras de fezes e amostras de água diretamente das fontes de água analisadas. Todas as amostras foram submetidas às etapas de isolamento, identificação através das provas bioquímicas e avaliação fenotípica da resistência dos isolados aos principais antimicrobianos utilizados na prática leiteira. Os isolados suspeitos de produzirem betalactamases foram submetidos aos testes de disco difusão combinado segundo metodologia do CLSI (2014).

Resultados e discussão

No período de inverno e primavera foram obtidos 47 enterobactérias das amostras de leite, 12 das amostras de água e finalmente, 73 das fezes, distribuídas segundo suas espécies no gráfico 1.

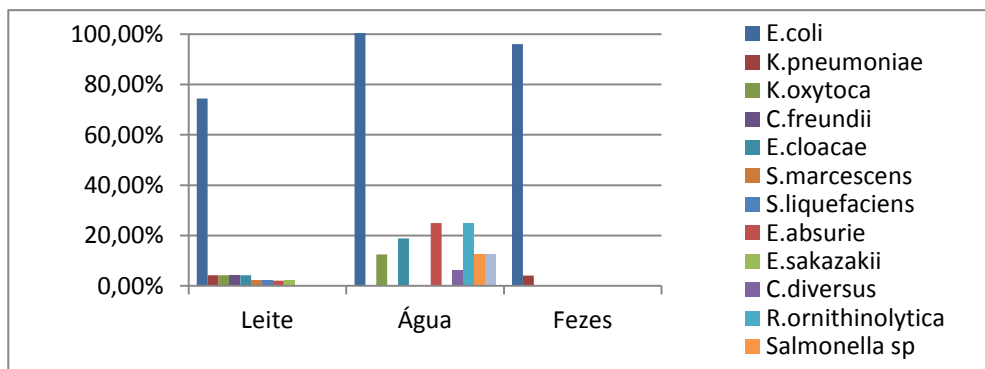


Gráfico 1. Porcentagem de Enterobactérias isoladas de Leite, água e fezes nas estações de inverno e primavera do ano de 2014.

A maioria das espécies bacterianas identificadas é comumente encontrada no ambiente dos animais e campo. Entretanto, é necessário alertar que estas bactérias são oportunistas e causam patologias graves ao gado e ao ser humano se estes forem suscetíveis. Logo, medidas sanitárias devem ser tomadas no ambiente de ordenha para que se evite o contato dos animais com esses agentes patogênicos e principalmente o leite obtido neste local. Para a técnica de difusão em disco simples foram utilizadas as classes antimicrobianas: aminoglicosídeos, betalactâmicos, carbapenemas, quinolonas e sulfonamidas. O percentual de resistência está exposto na tabela 1.

Tabela 1. Percentual de resistência aos antibióticos frente às enterobactérias isoladas de amostras de leite, água e fezes.

	TET	DOX	NEO	GEN	CIP	SUT	AZI	AMP	PEN	AMO	AMC	CFO	CRO	CAZ	CPM	IPM
Leite	20	20	45	12	12	30	100	51	100	47	35	24	16	12	20	31
Água	50	56	81	31	19	62	100	81	100	81	44	25	37	19	44	44
Fezes	16	15	15	11	17	4	92	17	100	16	12	13	9	5	16	21

Legenda: TET-Tetraciclina, DOX-Doxiciclina, NEO-Neomicina, GEN-Gentamicina, CIP-Ciprofloxacina, SUT-Sulfametoxazol-Trimetoprim, AZI-Azitromicina, AMP-Ampicilina, PEN-Penicilina, AMO-Amoxicilina, AMC- Amoxicilina+AC, CFO-Cefoxitina, CRO-Ceftriaxona, CAZ-Ceftazidima, CPM-Cefepime, IPM-Imipenem.

O fato dos isolados apresentarem resistência aos betalactâmicos e a alguns antimicrobianos de outras classes exalta a necessidade de pesquisas relacionadas a essa resistência e a necessidade de fiscalização mais efetiva sobre o uso destes. Pois, sendo resistentes aos antimicrobianos e, tendo como mecanismo a transferência de genes entre uma espécie e outra, a disseminação dessa resistência pode ser abrangente visto que somos consumidores do leite e de seus derivados além do contato direto de seres humanos com esses animais e ambiente. Após realização das provas de detecção de betalactamases, um total de 46% (12/26) dos isolados foi confirmado como produtor de betalactamases do tipo AmpC, sendo 70% (8/12) isolado de leite, 75%(3/4) da água e 10% (1/10) das fezes. Apesar de 96% dos isolados apresentarem resistência ao imipenem e 100% resistência às cefalosporinas e penicilinas utilizadas, nenhum isolado se mostrou positivo para produção de carbapenemases e ESBL, respectivamente, nos testes confirmatórios utilizados. Em etapas futuras, o teste de indução com discos será realizado de modo a elucidar a origem dos genes relacionados à produção desta enzima, uma vez que a literatura aponta para o fato de que a indução da produção desta betalactamase é de origem cromossomal e a não indução, plasmidial.

Conclusão

Foi obtida predominância da *E.coli* dentre as amostras analisadas, como já era esperado uma vez que esta bactéria faz parte da microbiota comensal destes animais. Porém, o percentual variado de resistência a todos os antimicrobianos testados e o fato de quase 50% das enterobactérias isoladas ter apresentado produção de betalactamase do tipo ampC, aponta para a importância do uso prudente de antibióticos na medicina veterinária não apenas para o controle de bactérias Gram positivas como os *Staphylococcus* spp., mas também para as enterobactérias que apresentam ampla distribuição no ambiente de produção leiteira.

Referências Bibliográficas

- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F. Controle da mastite ou como reduzir a contagem de células somáticas do rebanho bovino leiteiro. Embrapa Gado de Leite.2009.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fiftenth Informational Supplement.CLSI document M 100-S 21 (ISBN 1-56238-556-9). 2014.
- SOUSA Jr, M. A.; FERREIRA, E.S.; CONCEIÇÃO, G.C. Betalactamases de espectro ampliado um importante mecanismo de resistência bacteriana no laboratório clínico. NewsLab, n.63,152-174. 2004.