

- 1 » Caracterização da morfologia externa de fetos de paca
- 2 » Análise comparativa do número de corpos de neurônios em área do córtex cerebral de diferentes raças de cães
- 3 » Estudo histológico da glândula pineal de *Nasua nasua* (Quati) empregando microscopia de luz
- 4 » Análise macroscópica do aparelho reprodutor masculino do ouriço-cacheiro (*Coendou villosus*)
- 5 » Características de células fibroblast-like derivados do cultivo do saco vitelino em diferentes períodos gestacionais
- 6 » Suspeita da produção de β -Lactamase de espectro estendido (ESBL) Enterobactérias isoladas em caso de mastite ambiental
- 7 » Qualidade do leite de acordo com a instrução normativa 51: Contagem de células somáticas em amostras de leite bovino
- 8 » Estudo da pluripontencialidade do fígado fetal canino nos diferentes períodos gestacionais
- 9 » Influência do estresse causado pela tosquia e aumento de peso ao nascer de cordeiros (*Ovis aries*) - Resultados parciais
- 10 » Morfologia e viabilidade de oócitos ovinos para produção de embriões em laboratório
- 11 » Avaliação do ganho de peso diário de cordeiros segundo o manejo de desmame
- 12 » Incidência de endoparasitoses em ovinos da raça Santa Inês em função do horário de pastejo
- 13 » Leucemia canina: Casos diagnosticados no período de 2003 a 2006
- 14 » Técnica para cateterização do espaço subaracnóideo em ovinos
- 15 » Avaliação da adaptação de ovelhas ao manejo de ordenha mecânica através do comportamento

SUSPEITA DA PRODUÇÃO DE b-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO (ESBL) ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS EM CASO DE MASTITE AMBIENTAL

CAROLINA BARBOSA MALEK DOS REIS¹, ROSIMARY DE JESUS GOMES TURRI², MARIA RAQUEL DE GODOY ORIANI³

¹Graduanda do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos. Av. Dr. Octávio da Silva Bastos, s/nº, São João da Boa Vista/SP, 13874-159.

² Docente da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC).

³ Docente do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos. Av. Dr. Octávio da Silva Bastos s/nº, São João da Boa Vista/SP, 13874-159.

RESUMO: A grande dificuldade em se controlar a mastite é que, o uso indiscriminado de antibióticos pode gerar microorganismos multiresistentes. A literatura descreve que enterobactérias são produtoras de enzimas b-lactamase de espectro estendido (ESBL) o que leva à resistência aos antibióticos b-lactâmicos. O objetivo deste trabalho foi isolar enterobactérias produtoras de ESBL a partir de leite mastítico bovino. A técnica usada no antibiograma foi o método de difusão de disco preconizado pelo NCCLS (2002). Foram obtidas cepas de *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Salmonella* e *Klebsiella*, sugestiva de serem produtoras de ESBL. Conclui-se que a presença de cepas multirresistente se deve ao uso inadequado de antibiótico na propriedade.

PALAVRAS-CHAVE: bactéria, ESBL, mastite, resistência

INTRODUÇÃO

A mastite ambiental é causada por microorganismos que vivem no trato gastrointestinal dos animais ou no ambiente de ordenha, entre eles: *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*, *Streptococcus uberis*, *Pseudomonas aeruginosa* (WATTS, 1988).

O complexo etiológico e multifatorial da mastite dificultam o controle da doença, principalmente, quando se leva em consideração a resistência desenvolvida pelos microrganismos frente aos antimicrobianos. O uso indiscriminado de antibióticos com dosagens inadequadas, notadamente em casos de mastite, favoreceu o desenvolvimento de cepas patogênicas multiresistentes (JHALA, 1976).

Pesquisas indicam que a resistência é maior para os antibióticos b-lactâmicos devido à produção de enzimas b-lactamases que clivam o anel estrutural das cadeias dos antibióticos b-lactâmicos (WOODS e WASHINGTON, 1995). Recentemente foi descrito a produção da enzima b-lactamase de espectro estendido (ESBL) codificada por genes plasmidiais, que podem ser transferidos para outras bactérias (PATTERSON et al., 1997). As bactérias do tipo ESBL são resistentes não só aos

antibióticos b-lactâmicos, mas também aos aminoglicosídeos, sulfonamidas, tetraciclina e cloranfenicol (MEYER et al., 1993).

O aumento da resistência bacteriana a diferentes antibióticos tem levado diversos países, incluindo o Brasil, a desenvolver programas de vigilância para detectar linhagens resistentes (OPLUSTIL et al., 2001). Dentre todas as bactérias que têm desenvolvido resistência, o grupo das *Enterobacteriaceae* tem sido amplamente focada devido ao aumento da resistência (OPLUSTIL et al., 2001).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a possível presença de bactérias produtoras de b-Lactamases de Espectro Estendido (ESBL) em caso de mastite ambiental em um rebanho leiteiro da cidade de São João da Boa Vista/SP.

MATERIAL E MÉTODOS

As análises microbiológicas foram realizadas a partir de leite coletado em uma fazenda, localizada no município de São João da Boa Vista/SP, com produção de leite tipo B, composta por 41 fêmeas raça holandesa. Após o diagnóstico da mastite subclínica e clínica, as amostras de leite foram coletadas assepticamente e semeadas, em placas de Petri, em meio de cultura MacConkey, incubadas à 37° C por 24 horas. As colônias que cresceram foram repicadas e inoculadas em Ágar Nutriente (NA) onde posteriormente foram identificadas bioquimicamente nos testes: Tríplice Açúcar Ferro (TSI), Citrato, Uréia, Indol, Lisina, Fenilalanina, Ornitina e Arginina. A partir do meio NA, as colônias foram repicadas, novamente, para o caldo cérebro coração (BHI) e incubadas à 37°C por 12 horas, quando então foram realizados os antibiogramas, pelo método de difusão de disco em Ágar Mueller-Hinton. Os antibióticos testados foram (Oxoid): Ceftriaxona (30 µg), Aztreonam (30 µg), Ceftazidima (30 µg), Cefotaxima (30 µg), Cefpodoxima (10 µg), considerados antibióticos chave. Foram adotados os critérios recomendados pelo NCCLS (2002) que considera como bactérias potencialmente produtoras de ESBL, quando ocorre um halo de inibição menor ou igual à: 25mm para Ceftriaxona, 27mm para Aztreonam, 22mm para Ceftazidima, 27 mm para Cefotaxina e 22 mm para Cefpodoxima.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A partir das amostras de leite mamífero, foram isoladas várias bactérias gram-negativas da família *Enterobacteriaceae* sendo identificadas como cepas de: *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Salmonella* e *Klebsiella*.

Foram isoladas diversas cepas de *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella* e *Enterobacter*; e, apresentaram halo de resistência a um ou a vários antibióticos, sugerindo, por tanto, que sejam produtoras de ESBL. No entanto, as cepas de *Enterobacter* não apresentaram resistência a Cefpodoxima.

A literatura reporta prevalências de ESBL em cepas isoladas na América do Norte: *Klebsiella spp.* 44%, *E. coli* 4,7%, *Proteus mirabilis* 9,5%; e na América do Sul: *Klebsiella spp.* 47,3%, *E. coli* 25,4%, *Proteus mirabilis* 35,5% (DALMARCO et al., 2006). Na França, Reino Unido, Grécia e Hungria isolaram cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBL, com prevalência de 9,6%, 14%, 24%, 9%; respectivamente (PEREIRA et al., 2003). A ocorrência de ESBL mundialmente é sub-estimada, principalmente, pela dificuldade em detectá-las devido a grande variedade de métodos e de interpretação dos resultados (DALMARCO et al., 2006).

O maior problema encontrado com bactérias produtoras de ESBL são os genes que codificam resistência a vários grupos de antibióticos (PEREIRA et al., 2006). Esses dados podem ser confirmados, pois no estudo realizado por Malek et al. (2006), com as mesmas cepas, os resultados obtidos, também demonstraram que as cepas *Escherichia coli* apresentaram resistência a amoxicilina e, permaneceram intermediárias a cefoperazona; *Klebsiella sp* foram resistentes somente a amoxicilina; *Citrobacter* foram intermediários a amoxicilina; as demais foram sensíveis aos antibióticos testados.

Na Medicina Veterinária o risco de promover microorganismos resistentes é maior pelo fato de drogas antimicrobianas serem utilizadas com fins terapêuticos, profiláticos e de promoção de crescimento (com doses subterapêuticas). Contudo pode-se perceber que além do tratamento de mastites outros empregos de antibióticos devem ser considerados alarmantes, pois podem ser responsáveis pelo surgimento de microorganismos resistentes. Por isso, de acordo com Dalmarco et al. (2006) o isolamento de cepas multirresistentes não deve abranger somente a ambiente hospitalar, mas a outras áreas médicas. Outros autores (Pereira et al., 2003) concluíram que a detecção acurada e rápida de amostras produtoras de ESBL, em várias espécies, permite uma melhor escolha terapêutica e dificulta disseminação deste tipo de resistência.

O tubo digestivo atua como reservatório potencial destes microorganismos multirresistentes, além, de se tornar um habitat adequado para transferência de genes de resistência entre as espécies bacterianas (SOUZA et al., 2004). Andrade et al. (2004) indica a possibilidade da

disseminação cruzada de resistência entre as cepas de *E. coli*, *Serratia marcescens* e *K. pneumoniae* para cepas de *Staphylococcus*.

O problema da multiresistência bacteriana se agrava ainda mais, uma vez que, cada vez são menores as barreiras para a transferência de genes de resistência entre microrganismos patogênicos, incluindo bactérias de gêneros e famílias diferentes, como também para a transferência horizontal de bactérias resistentes dos animais para o homem e vice-versa (HEISIG et al., 1995). Freitas et al. (2003) e Esmerino et al. (2003) isolaram de pacientes humanos, cepas de *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL.

Uma grave consequência do desenvolvimento de bactérias resistentes na pecuária leiteira, é o risco em saúde pública, na medida que muitos dos agentes patogênicos envolvidos em sua gênese, podem ser transmitidos via secreção láctea, dos animais para o homem, levando a quadro de infecção ou de toxinfecção nos consumidores, dificultando o tratamento de enfermidades infecciosas.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a prevalência de cepas, provavelmente produtoras de b-lactamases de Espectro Estendido é alta, por isso fica ressaltada a importância na continuidade do trabalho, realizando os testes confirmatórios nas linhagens isoladas.

Nota-se a importância em estabelecer um programa de vigilância do perfil de resistência antimicrobiana na área de Medicina Veterinária, para uma orientação terapêutica adequada, para impedir o uso indiscriminado de antibióticos, e conseqüentemente o surgimento de bactérias resistentes, pois a eficiência do tratamento depende da correta identificação do agente etiológico, do conhecimento do padrão de sensibilidade desse agente diante dos diversos antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, V. M. C.; Grupo de Resistência Bacteriana; JESÚS SILVA, D. C. Caracterización de *Klebsiella pneumoniae* Productora de la β -lactamasa SHV-5, en una Unidad de Cuidados Intensivos. **Salud Pública do México**. v. 46, n. 6; 2004.
- DALMARCO, E.M., BLATT, S.L., CORDOVA, C.M. Identificação Laboratorial de β -Lactamases de Espectro Estendido (ESBL) -Revisão. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v. 38, n. 3, p. 171-177; 2006.
- ESMERINO, L. A.; GONSALVES, L. G.; SCHELESKY, M. E. Perfil de Sensibilidade Antimicrobiana de Cepas de *Escherichia coli* Isoladas de Infecções Urinárias Comunitárias. **UEPG: Ciência Biológica e da Saúde** v. 9, n. 1, p. 31-39; 2003.
- FAGUNDES, H. e OLIVEIRA, C. A. F. Infecção Intramamária Causada por *Staphylococcus aureus* e suas Implicações em Saúde Pública. **Ciência Rural**. v. 34, n. 4, p. 1315-1320; 2004.
- FREITAS, A. L. P.; MACHADO, D. P.; SOARES, F. S. C.; BARTH, A. L. Extended-Spectrum Beta-Lactamases in *Klebsiella spp* and *Escherichia coli* Obtained in a Brazilian Teaching Hospital: Detection, Prevalence and Molecular Typing. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 34, n. 4; 2003.
- HEISIG, P., KRATZ, B., HALLE, E., GRASER, Y., ALTWEGG, M., RABSCH, W., FABER, J.P. Identification of DNA gyrase A mutations in ciprofloxacin-resistant isolates of *Salmonella typhimurium* from men and cattle in Germany. **Microbiology Drug Resistant**. 1:211-18, 1995.
- JHALA, V.M. In vitro trials on antibiotic sensitivity of bacteria in milk samples received at gujarat veterinary College Anand. **Indian Veterinary Journal**. v. 53, p. 247-251, 1976.
- MALEK, C. B.; SANTOS, A. M. A.; ROQUETO, M. A.; VARZIM, F. L. S. B.; TURRI, R. J.G.; ORIANI, M. R. G. Isolamento e identificação de enterobactérias de mastite bovina em uma fazenda leiteira de São João da Boa Vista/SP-Perfil de resistência a antibióticos-Abordagem preliminar. **Encontro de Produção Acadêmica-Anais do 7º encontro de produção acadêmica da Fundação de Ensino Octávio Bastos, Centro Universitário, nº7**; p.198-203; 2006
- MEYER, K.S.; EAGAN, J.A.; BERGER, B.J.; RAHAL, J. Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* infection resistant to late-generation cephalosporins. **Annales de Droit International Medical**. v. 119, p. 353-358, 1993.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational supplement: M100-S12. **NCCLS, Vilanova, PA, 2002**.
- OPLUSTIL, C.P., NUNES, R., MENDES, C and RESISTNET GROUP. Multicenter evaluation of resistance patterns of *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella ssp* and *Shigella ssp* isolated from clinical specimens in Brazil: RESISTNET Surveillance program. **Brazilian Journal Infection Disease**. v.5, n.1, p.8-12, 2001.
- PATTERSON, J.E., RECH, M., JORGENSEN, J.H. Extended-spectrum beta- lactamases: dilemmas in detection and therapy. **Antimicrobial Infection Diseases News**. v.16, n.8; 1997.
- PEREIRA, A.S., CARMO FILHO, J.R., TOGNIM, M.C.B., SADER, H.S. Avaliação da Acurácia de Testes Laboratoriais para Detecção de Amostras de *Klebsiella pneumoniae* Productora de Betalactamases de Espectro Estendido. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v.39, n.4, p.301-308; 2003.
- SOUZA JR., M.A.; FERREIRA, E.S.; CONCEIÇÃO, G.C. β -lactamases de Espectro Estendido (ESBL): um importante mecanismo de resistência bacteriana e sua detecção no laboratório clínico. **Revista Newslab**. Ed. 63; 2004.
- WATTS, J.L. Characterization and identification of *Streptococcus* isolated from bovine mammary glands. **Journal Dairy Scienc**. v.71, p.1616-1624, 1988.
- WOODS, G.L. e WASHINGTON, J.A.. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. In: MURRAY, P.R., BARON, E.L., PFALLER, M.A. et al.. (Ed) **Manual of clinical microbiology**. Washington. American Society for Microbiology Press. p 1327-1341, 1995.