

## ESTUDO PRELIMINAR DA RESISTÊNCIA/ SENSIBILIDADE EM ANTIBIÓTICOS EM CEPAS DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA.

**ALVES, Mariane Igansi<sup>1</sup>; BONOW, Fatiele<sup>1</sup>; NORËNBERG, Alice Clasen<sup>1</sup>; da MOTTA, Amanda Souza<sup>2</sup>; JANTZEN, Márcia Monks<sup>3</sup>; GANDRA, Eliezer Avila<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Graduandas do Curso de Química de Alimentos, <sup>2</sup>Instituto de Ciências Básicas da Saúde - Departamento de Microbiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGSI, <sup>3</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS, <sup>4</sup> Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos – UFPel, Campus Universitário s/n – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900.  
gandraea@hotmail.com

### 1 INTRODUÇÃO

A exploração dos bubalinos para a produção de leite é uma atividade que tem crescido nos últimos anos no Brasil, particularmente nos Estados da região Sudeste (MACEDO, et. al., 2001). Em virtude das características físico-químicas particulares do leite de búfala, como, por exemplo, os teores de sólidos totais, de gordura e de caseína (41,1; 88,5; 47,7% superiores, respectivamente, ao do leite de vaca), sua industrialização tem gerado produtos diferenciados, como mozzarella, provolone e ricota, entre outros, que têm recebido remuneração superior à dos produtos oriundos do leite bovino (ANDRIGHETTO, et.al. 2005).

Estafilococos Coagulase Positiva (ECP) são patógenos relacionados a surtos de intoxicação alimentar, além disso, entre estes micro-organismos encontra-se a espécie *S. aureus*, comumente associada à doenças hospitalares sendo considerada um grande problema de saúde pública. A presença de ECP em alimentos pode indicar deficiência de processamento térmico, condições higiênicas inadequadas do processo ou, ainda, refrigeração ineficiente pós preparo (GANDRA, et.al, 2009). Um fator relevante relacionado à segurança alimentar diz respeito à resistência bacteriana a antimicrobianos (MIGUEL, 2010).

O desenvolvimento de resistência por certas bactérias patogênicas é mais rápido que a capacidade da indústria para produzir novas drogas. Entre as bactérias que voltaram a ser perigosas destaca-se o *Staphylococcus aureus*, um poderoso agente de infecção hospitalar (FREITAS, et. al, 2004) e esta resistência é principalmente causada pelo uso inadequado e frequentemente indiscriminado de antibióticos (NASCIMENTO, et. al, 2001).

A resistência bacteriana pode ser definida como o fenômeno biológico que possibilita aos micro-organismos a capacidade de multiplicação ou persistência na presença de níveis terapêuticos do antimicrobiano. Os micro-organismos resistentes não se inibem pelas concentrações habitualmente alcançadas no sangue ou tecidos do correspondente antimicrobiano, ou apresentam mecanismos de resistência específicos para o agente estudado (MIGUEL, 2010).

Objetivou-se com esse estudo a resistência/sensibilidade de Cepas de Estafilococos Coagulase Positiva isoladas em leite de búfala a antibióticos de uso terapêutico em humanos e em animais.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os testes de resistência/sensibilidade aos antibióticos foram realizados de acordo com a técnica de antibiograma por difusão em ágar de acordo com protocolo proposto NCCLS (2000).

Foram utilizadas três cepas previamente caracterizadas como *Estafilococos Coagulase Positiva* isoladas a partir de amostras de leite de búfala coletadas em uma propriedade rural no Balneário Cassino, Rio Grande – RS.

As cepas eram mantidas congeladas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  em caldo *Brain-Heart-Infusion* (BHI) com Glicerol. A recuperação das cepas foi realizada a partir em BHI com incubação por 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . Após este período, uma alíquota de cada cepa proveniente do BHI foi separadamente semeada em Ágar Baird-Parker e incubada por 48 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . Uma colônia característica era então estriada em gar *Brain-Heart-Infusion* (BHA) e incubada por 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ .

Foram transferidas duas alçadas da cultura em BHA para solução salina estéril (NaCl 0,85%), até a turvação compatível com o grau 0.5 da escala de Mac Farland. Em seguida, com auxílio de *swab* estéril, as culturas foram inoculadas de forma homogênea em placas Ágar Muller-Hinton (MH). Após a secagem da superfície do ágar, foram colocados na superfície das placas multidiscos de antibióticos (Laborclin) nos quais estão aderidos discos de papel com diâmetro de 6mm impregnados com antibióticos para uso em antibiograma por difusão em ágar com os seguintes antibióticos Eritromicina (ERI), Vancomicina (VAN), Cloranfenicol (CLC), Rifampicina (RIF), Gentamicina (GEN), Tetraciclina (TET), Sulfazotrim (SUT), Ciprofloxacina (CIP), Penicilina G (PEN), Oxacilina (OXA), Clindamicina (CLI). As placas foram incubadas por 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  e, passado esse período, realizou-se a leitura dos testes, detectando-se a resistência ou sensibilidade a determinado antibiótico, de acordo com o tamanho dos halos formados ao redor do disco.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes de resistência e sensibilidade das cepas de *Estafilococos Coagulase Positiva* isoladas em leite de búfala podem ser verificados na Tabela 1.

Tabela 1. Perfil de resistência e sensibilidade de *Estafilococos Coagulase Positiva* isolados de leite de búfala.

Antibiótico ( $\mu\text{g}$ )	Isolado 1		Isolado 2		Isolado 3	
	Halo (mm)	Perfil	Halo (mm)	Perfil	Halo (mm)	Perfil
ERI 15	30	S	28	S	28	S
VAN 30	22	S	21	S	30	S
CLC 30	21	S	22	S	27	S
RIF 30	20	S	NA	NA	16	R
PEN	NA	NA	19	R	12	R
GEN 10	18	S	17	S	24	S
TET 30	33	S	30	S	30	S
SUT 25	10	R	29	S	15	I
CIP 5	22	S	25	S	22	S
OXA 1	NA	NA	NA	NA	15	S
CLI 2	NA	NA	NA	NA	10	R

ERI - Eritromicina, VAN - Vancomicina, CLC - Cloranfenicol, RIF - Rifampicina, GEN - Gentamicina, TET - Tetraciclina, SUT - Sulfazotrim,

CIP - Ciprofloxacina, PEN - Penicilina G, OXA - Oxacilina, CLI - Clindamicina, R - Resistente, I - Intermediário, S - Sensível, NA - Não Avaliado

Conforme visualizado na Tabela 1 todos os isolados apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico, o isolado 1 apresentou resistência a sulfazotrim, o isolado 2 a penicilina G e o isolado 3 a rifampicina, a penicilina G e a clindamicina, podendo ser caracterizado este último como multiresistente.

Gandra et al. (2009), em acordo com este estudo, avaliando a resistência/sensibilidade de 11 cepas de *Estafilococos Coagulse Positiva* isoladas em amostras de embutidos e de queijos coloniais verificaram que 100% das cepas foram resistentes ao antibiótico penicilina, e 81% das cepas apresentou sensibilidade intermediária ao antibiótico clindamicina. Conforme os mesmos autores cepas com sensibilidade intermediária apresentam o potencial para se tornarem resistentes. Em nosso estudo o isolado 3 apresentou sensibilidade intermediária ao sulfazotrim.

A maior resistência a penicilina verificada em dois isolados neste estudo também foi verificada da Gandra et al (2009) e por Menegotto e Picoli (2007) que testaram o perfil de sensibilidade de 40 cepas de *S. aureus* isoladas de indivíduos não hospitalizados frente à antibióticos e observaram uma maior tendência à resistência aos  $\beta$ -lactâmicos, como a penicilina (72,5%),

Apesar de este estudo estar em fase inicial e do espaço amostral ser pequeno, é possível inferir o uso inadequado de antibióticos no rebanho bubalino avaliado. Além disso, cepas “resistentes” não são inibidas pelas concentrações sistêmicas dos agentes antimicrobianos geralmente atingíveis nos regimes terapêuticos normais (NCCLS, 2000), denotando uma situação preocupante.

#### 4 CONCLUSÃO

Ao término deste estudo preliminar, verificou-se a ocorrência de resistência aos antibióticos de uso comum por cepas de *Estafilococos Coagulase Positiva* isoladas em leite de búfala proveniente da região de Balneário Cassino, Rio Grande-RS.

#### 5 REFERÊNCIAS

MACEDO, Marcelo Pereira; WECHSLER, Francisco Stefano; RAMOS, Alcides de Amorim; AMARAL, Jackson Barros; SOUZA, Júlio César; RESENDE, Flávio Dutra; OLIVEIRA, José Victor, **Composição Físico-Química e Produção do Leite de Búfalas da Raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo**; Rev. bras. zootec., 30(3): 1084-1088, 2001.

GANDRA, Tatiane Kuka Valente; Oliveira, Mauricéia Greci; BANANI, Milena Tomasi; SILVA, Wladimir Padilha, **Perfil de resistência/sensibilidade a antibióticos em cepas de Estafilococos coagulase positiva isoladas em embutidos e de queijos**, Congresso de Iniciação Científica, 2009

ANDRIGHETTO, Cristiana; JORGE, André Mendes; GOMES, Maria Isabel Franchi Vasconcellos; HOCH, Amanda; PICCIANI, Adriana. **Efeito da monensina sódica sobre a produção e composição do leite, a produção de mozzarella e o escore de condição corporal de búfalas Murrah**, R. Bra. Zootec. Vol.34 no.2 Viçosa Mar/Apr. 2005.

MIGUEL, Patrícia Regina Rocha, **Incidência de contaminação no processo de obtenção do leite e suscetibilidade a agentes antimicrobianos**, 2010, Pós Graduação em Zootecnia, Universidade do Oeste do Paraná.

FREITAS, M.F.L.; MOTA, R.A.; LEÃO, A.E.D.S.; FIGUEREIDO, M.L.; FONTE, M.M.; VIEIRA, R.F.C., **Sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de carcaças de frango comercializadas em Recife**, Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. vol.56 no.3 Belo Horizonte June 2004.

NASCIMENTO, Gislene Garcia; MAESTRO, Vanessa; CAMPOS, Mara Silva Pires, **Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP**, Rev. Nutr., Campinas, 14(2): 119-124, maio/ago., 2001.

MENEGOTTO, F. R., PICOLI, S. U. **Staphylococcus aureus oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital**. Revista Brasileira de Análises Clínicas, 2007, 39(2), P. 147-150.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M7-A5**. Wayne, PA, 2000.