

TESTE DE ANTIBIOGRAMA PARA VERIFICAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EM CENTRAIS DE COLETA DE SÊMEN

MION, Bruna¹; MADEIRA, Elisângela M.¹, BIANCHI, Ivan¹

¹ Grupo de pesquisa ReproPel-PigPel- Faculdade de Veterinária-Ufpel
Campus universitário s/n- Caixa Postal 354- CEP 96010-900
Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.
E-mail: bubimion@gmail.com
Site: <http://www.ufpel.edu.br/fvet/repropel-pigpel/>

1 INTRODUÇÃO

A inseminação artificial é, atualmente, a biotecnologia da reprodução mais utilizada comercialmente (MOUSTACAS *et al.*, 2010). Como a coleta de sêmen não é um procedimento estéril, o ejaculado pode carrear consigo diversos gêneros bacterianos. Algumas bactérias são deletérias para os espermatozoides em uma concentração dependente (YÁNIZ *et al.*, 2010), podendo resultar em perdas devido a baixas taxas de fertilidade, aborto e descarte prematuro de animais reprodutores (MOUSTACAS *et al.*, 2010). Para reduzir essa contaminação é prática corrente adicionar agentes antimicrobianos aos diluentes.

O uso de antibióticos pode ter um impacto prejudicial sobre os espermatozoides e a escolha dos agentes antimicrobianos para o uso em diluentes é limitada (MORREL & WALLGREN, 2011). Os antibióticos utilizados por tempo indeterminado, mesmo que em pequenas quantidades, podem propiciar a ocorrência de níveis consideráveis de resistência microbiana (JOHANSSON *et al.*, 2004). O recomendado é avaliar a contaminação residente em cada ambiente, mediante a um controle rotineiro do sêmen, para tomar a decisão adequada do antimicrobiano a ser utilizado (PINEDA & SANTANDER, 2007).

O objetivo desse estudo foi isolar os microrganismos presentes em sêmen ovino e submetê-los a antibiograma, visando avaliar a eficácia dos antibióticos utilizados rotineiramente na diluição dos ejaculados em centrais de processamento de sêmen.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Foram utilizados 12 ejaculados de 5 carneiros da raça Crioula Lanada que ficavam alojados nas instalações do Biotério Central UFPEL, recebendo suplementação concentrada e tendo acesso a pastagem nativa, sal mineral e água *ad libitum*. Antes de executar a coleta de sêmen propriamente dita foram coletadas amostras do óstio prepucial dos animais, da vagina artificial utilizada no procedimento, através de *Swab* provido de um meio nutriente para bactérias aeróbicas. Após procedia-se a coleta de amostras de ejaculados, para posterior identificação dos microrganismos contaminantes do sêmen. Estas amostras foram cultivadas em ágar com 5% de sangue ovino e posteriormente as colônias que cresceram foram identificadas através de testes bioquímicos. Os microrganismos identificados foram submetidos a teste de antibiograma com os antibióticos mais utilizados no processamento de sêmen em centrais. O teste foi realizado utilizando os seguintes antibióticos: **GTLS**, com 90 µg de gentamicina, 400 µg de tilosina, 100 µg de lincomicina e 200 µg de espectinomicina; **PENSTREP**, com 10 µg de penicilina

e 40µg de estreptomicina; **CEFT**, com 100 µg de ceftiofur sódico; e **ENRO**, com 200 µg de enrofloxacin.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os principais gêneros bacterianos encontrados foram *Staphylococcus sp*, *Klebsiella sp*, *Corynebacterium sp*, *Bacillus sp*. Além desses gêneros, Yániz *et al.*(2010) isolaram em ejaculados ovinos as seguintes espécies: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter cloacae*. Souza (2006) encontrou *Staphylococcus spp* e *Bacillus sp* em sêmen caprino criopreservado. Essa variação dos gêneros demonstra que a contaminação se restringe a cada indivíduo ou a cada grupo de indivíduos.

Essa contaminação torna-se prejudicial para as amostras. Doses contaminadas com enterobactérias perdem qualidade no armazenamento a 15°C (YÁNIZ, 2010). *Staphylococcus sp* pode causar mastite ovina, infecções urinárias e causa destruição celular através da secreção de enzimas. *Corynebacterium sp* pode causar cistite hemorrágica, pionefrite, ulcerações e hemorragias na parede da bexiga urinária e necrose de mucosas (BIBERSTEIN *et al.*, 1999). *Klebsiella sp*, quando presente no sêmen, é importante causador de metrite (SAMPER *et al.*, 2007). A espécie *E. coli* não foi identificada no presente experimento, entretanto causa sérios problemas de aglutinação e adesão espermática (WOLF *et al.*, 1993).

Os gêneros *Staphylococcus sp* e *Klebsiella sp* apresentaram resistência aos antibióticos estreptomicina, tilosina e penicilina. A estreptomicina é um antimicrobiano que se liga a unidade 30S do ribossomo, interferindo na tradução do mRNA. A tilosina é um antibiótico macrolídico, ativo principalmente contra bactérias gram-positivas. A penicilina inibe a síntese de parede celular bacteriana. A real eficácia desses antimicrobianos tem sido pouco investigada no sêmen ovino (MOUSTACAS *et al.*, 2010).

Segundo Kirinus (2010), o gênero *Staphylococcus* possui grande probabilidade de apresentar resistência. Já o gênero *Klebsiella* possui a capacidade de produzir enzimas que medeiam resistência à β-lactâmicos, exceto cefamicinas e carbapenêmicos (TONKIC, 2005). Esse aumento de resistência pode ser originário de vários fatores, incluindo o uso prolongado do mesmo protocolo de diluição de sêmen, mantendo o tipo e a quantidade dos antibióticos utilizados. Torna-se necessário a avaliação e o acompanhamento periódico dos antibióticos utilizados.

4 CONCLUSÃO

Os agentes bacterianos isolados foram *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Corynebacterium sp.* e *Bacillus sp.* Todos os antibióticos testados reduziram a carga microbiana do sêmen diluído. Entretanto, os gêneros *Klebsiella sp.* e *Staphylococcus sp.* apresentaram resistência aos antimicrobianos estreptomicina, tilosina e penicilina. Recomenda-se a realização periódica de testes de isolamento de microrganismos e testes de antibiogramas, determinando o perfil e a sensibilidade microbiana.

Apoio: CNPq e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

5 REFERÊNCIAS

BIBERSTEIN, Ernst L., HIRSH, Dwight C. Staphylococci. In: HIRSH, Dwight C., ZEE, Yuan C. **Veterinary Microbiology**. Inglaterra. v. 21, p.115-119, 1999.

BIBERSTEIN, Ernst L., HIRSH, Dwight C., The Urinal Tract as a Microbial Habitat, Urinary Tract Infection .In: HIRSH, Dwight C., ZEE, Yuan C. **Veterinary Microbiology**. Inglaterra. v.33, p.178-184, 1999.

JOHANSSON, A., GREKO, E., ENGSTRÖM, E. B., KARLSSON, M. Antimicrobial susceptibility of Swedish, Norwegian and Danish isolates of *Clostridium perfringens* from poultry, and distribution of tetracycline resistance genes. **Veterinary Microbiology**. Sweden. v.99, p.251-257, 2004.

KIRINUS, Jackeline Karsten. **Fenotipia e Genotipia de Streptococcus equi isolados em equinos da região sul do Brasil**. 2010. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

MORREL, J.M., WALLGREN, M. Removal of bacteria from boar ejaculates by Single Layer Centrifugation can reduce the use of antibiotics in semen extenders. **Animal Reproduction Science**. Sweden. v. 123. p. 64-69, 2011.

MOUSTACAS, V.S., XAVIER, M.N., CARVALHO-JÚNIOR, C.A., COSTA, E.A., HENRY, M., SANTOS, R.L. Effect of extender supplementation with various antimicrobial agents on viability of *Brucella ovis* and *Actinobacillus seminis* in cryopreserved ovine semen. **Theriogenology**. Brasil. v.74. p. 1476–1481, 2010.

PINEDA, Yuraima, SANTANDER, Jorge. Evaluación de la flora bacteriana del semen de verramos em granjas porcinas de Venezuela. **Zootecnia Tropical**. v.25 n.3, p.173-177, 2007.

SAMPER, Juan C., PYCOCK, Jonathan F., MCKINNON, A. O. **Current therapy in equine reproduction**. Elsevier Health Sciences, 2007.

SOUZA, Andreia F., GUERRA, Maria M. P., COLETO, Zoraide F., MOTA, Rinaldo A., SILVA, Leonildo B. G., LEÃO, Ana Emília D. S., SOBRINHO, Eliezer S.N. Avaliação microbiológica de sêmen fresco e congelado de reprodutores caprinos. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 329-336, 2006.

TONKIC, Marija, BARISIC, Ivana G., PUNDA-POLIC, Volga. Prevalence and antimicrobial resistance of extended-spectrum β -lactamases-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in a university hospital in Split, Croatia. **International Microbiology**. v.8, p. 119-124, 2005.

WOLF, H., PANHANZ, A., STOLZ, W., MEURER, M. Adherence of *Escherichia coli* to sperm: a mannose phenomenon leading to agglutination of sperm and *E. coli*. **Fertil. Steril**. v.60, p.154–158, 1993.

YÁNIZ, Jesús Luis, MARCO-AGUADO, María Angeles, MATEOS, José Angel, SANTOLARIA, Pilar. Bacterial contamination of ram semen, antibiotic sensitivities,

and effects on sperm quality during storage at 15°C. **Animal Reproduction Science.** Spain. v. 122. p. 142-149, 2010.