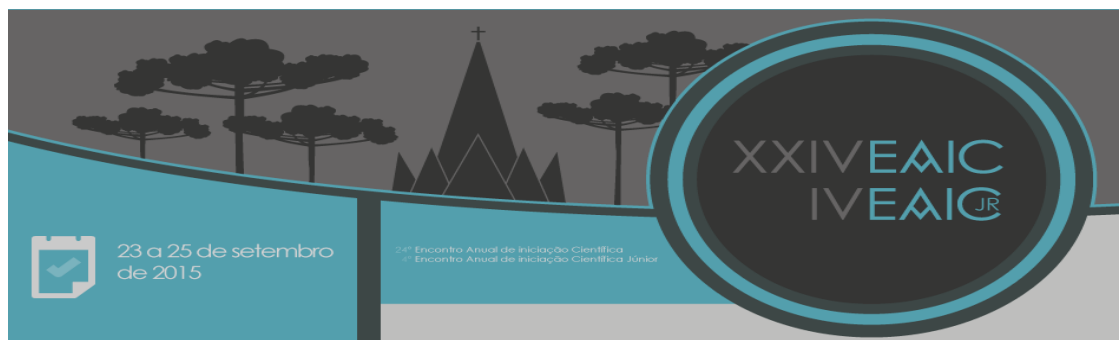




DETECÇÃO DE RESISTÊNCIA FENOTÍPICA E GENOTÍPICA EM *Staphylococcus* spp. ISOLADO DE MASTITE BOVINA

Giovana Hashimoto Nakadomari¹ (PIBIC/CNPq/Uem), Ana Claudia Lemes Pavan², Amanda Carmem Charalo³, Vanessa Kelly Capoia Vignoto⁴, Sheila Rezler Wosiacki⁵ (Orientador), e-mail: srwosiacki@uem.br.

¹Acadêmica Bolsista PIBIC/CNPq-FA/Uem do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá.

²Acadêmica do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá.

³Acadêmica do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá.

⁴Bióloga, Técnica do Laboratório de Microbiologia Animal da Universidade Estadual de Maringá.

⁵Orientadora, Docente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/Umuarama, PR.

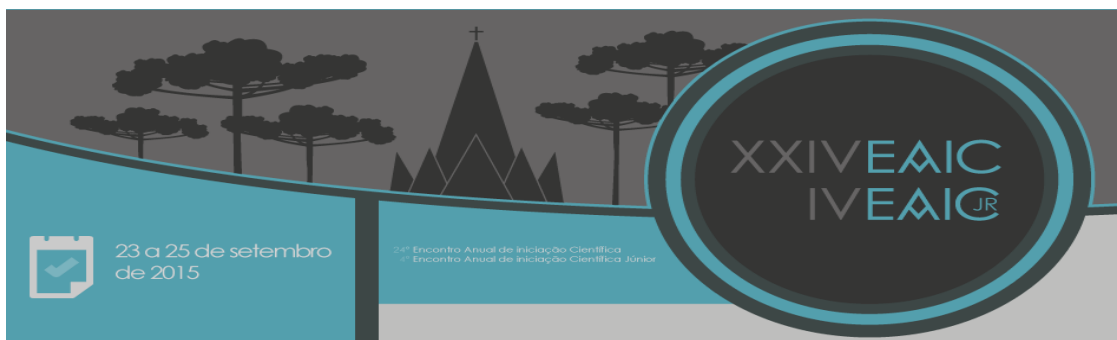
Área: Medicina Veterinária Preventiva e subárea: Doenças Infecciosas de Animais.

Palavras-chave: antimicrobianos, *blaZ*, *mecA*.

Resumo:

O objetivo deste projeto foi avaliar o perfil de resistência fenotípica e genotípica aos antimicrobianos de *Staphylococcus* spp. isolados de mastite bovina. Foram avaliados 37 *Staphylococcus* spp. isolados de mastite bovina pertencentes à coleção bacteriana do Laboratório de Microbiologia Veterinária do HV-Uem-CAU. Dessas, 12 amostras (32,4%) apresentaram o gene *blaZ* e foram resistentes a penicilina; 91,67% foram resistentes a amoxicilina e todas foram sensíveis a amoxicilina com ácido clavulônico. Das amostras *blaZ* negativas (25 amostras), 22 foram sensíveis a todas as drogas testadas.

Introdução



O *Staphylococcus aureus* é o principal patógeno isolado na mastite, principal enfermidade que acomete o gado leiteiro em todo o mundo. É uma doença de grande importância devido aos prejuízos que acarreta e ao grande dispêndio de antibióticos. Além dos problemas econômicos para o produtor, a mastite merece atenção na saúde pública pela contaminação do leite pelas bactérias eliminadas e pelos resíduos de antibióticos. Para a indústria de laticínios, o prejuízo é pela diminuição do tempo de consumo dos subprodutos nos mercados (AGOSTINIS et al., 2012).

O uso indiscriminado de antibióticos fez aumentar o número de cepas resistentes aos antimicrobianos. Os *Staphylococcus* spp. metilina resistentes (MRS) são um exemplo disso, e provocam grande preocupação, devido à gravidade das infecções que acarretam. A resistência dos MRS é devido a presença do gene *mecA* que sintetiza a proteína PPB2a, a qual tem baixa afinidade pelo antibiótico resultando em resistência (AGOSTINIS et al., 2012).

O objetivo da pesquisa foi detectar o perfil de resistência fenotípica e genotípica aos antimicrobianos dos *Staphylococcus* spp. isolados de mastite bovina e identificação de MRS.

Materiais e métodos

Foram avaliados 37 *Staphylococcus* spp. isolados de mastite bovina pertencentes à coleção bacteriana do Laboratório de Microbiologia Veterinária do HV-UEM-CAU.

O perfil de resistência fenotípico a antimicrobianos foi realizado em Ágar Muller Hinton (OXOID®), pelo método de disco-difusão. Os halos de inibição foram avaliados segundo CLSI (2008). Os antimicrobianos testados foram: penicilina G 10U, amoxicilina 10 µg, amoxicilina+ácido clavulônico 30 mcg, oxacilina 1 µg, cefalotina 30 µg, ceftriaxona 30 µg, cefoxitina 30 mcg, vancomicina 30 µg, gentamicina 10 µg, amicacina 30 µg, eritromicina 15 µg, clindamicina 2 µg, cloranfenicol 30 µg, enrofloxacina 05 µg, norfloxacina 10 µg, tetraciclina 30 µg e sulfazotrim 25 µg (NEWPROV®). O índice MAR (múltipla resistência antimicrobiana) foi calculado pelo número de antimicrobianos resistentes divididos pelo número de testados.

A detecção genotípica foi realizada pela técnica de multiplex-PCR (reação em cadeia pela polimerase) com detecção de fragmentos dos genes *mecA*, *mecC*, *blaZ* e *PVL* e controle interno da reação com o gene 16S.

Resultados e Discussão

Das 37 amostras de *Staphylococcus* spp. foram avaliadas, 23 (62,2%) foram coagulase positivas, consideradas mais patogênicas (BOND e LOEFFLER, 2012). Nenhuma amostra apresentou os genes *mecA*, *mecC* e



PVL, 12 (32,4%) apresentaram o gene *blaZ* sendo todas resistentes à penicilina. Brito et al. (2001) relataram a presença desse gene em todas as cepas resistentes a penicilina, visto que este gene é responsável pela produção de beta-lactamase, que destrói o anel beta-lactâmico, confirmado neste estudo. 91,67% das amostras positivas para o gene *blaZ* apresentaram resistência a amoxicilina e todas foram sensíveis a amoxicilina com ácido clavulônico; apenas duas amostras *blaZ* positivas apresentaram MAR $\geq 0,2$ (0,53 e 0,29).

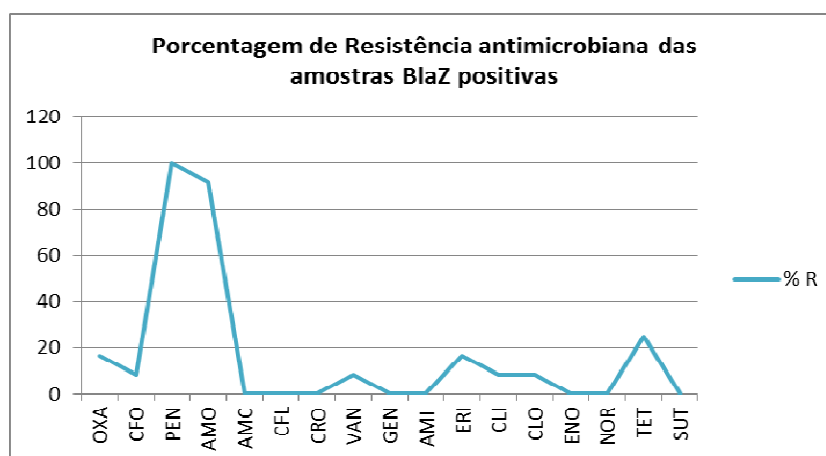


Figura 1 – Porcentagem de resistência antimicrobiana das amostras *BlaZ* positivas.

Das 25 amostras que não apresentaram o gene *blaZ*, 22 foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados. Apenas uma amostra apresentou índice MAR de 0,41.

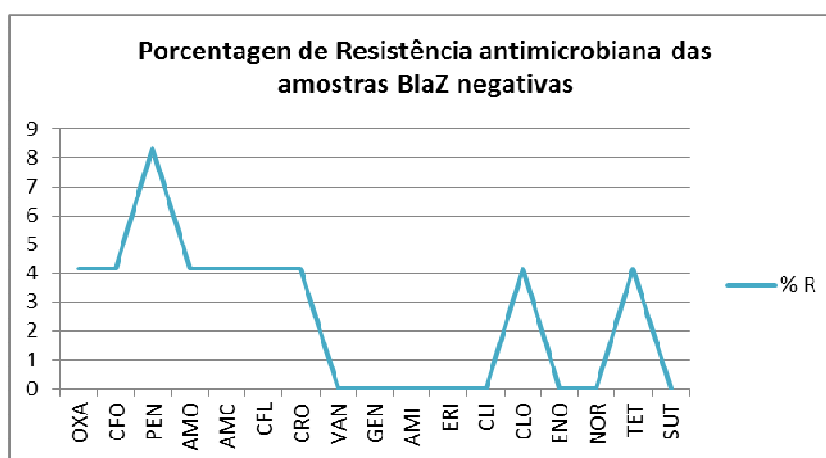
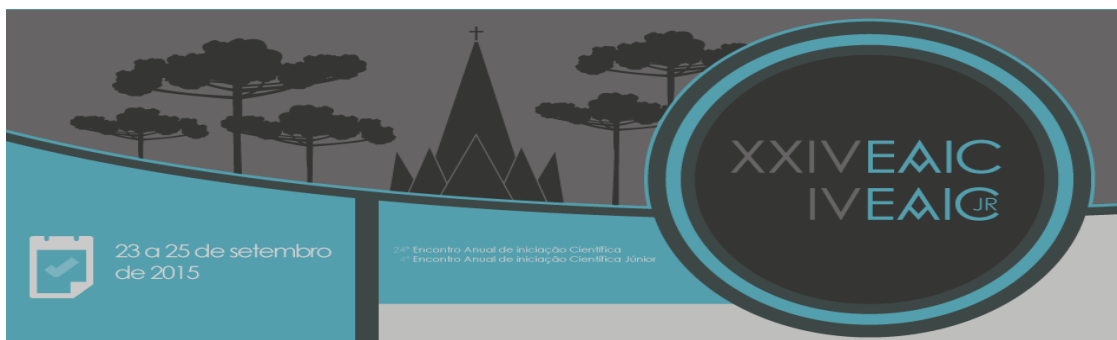


Figura 2: Porcentagem de resistência antimicrobiana das amostras *BlaZ* negativas.



Conclusões

A detecção do gene *blaZ* é um importante dado para avaliar a resistência a penicilina.

O uso sem distinção dos antibióticos se tornou um risco e um desafio à saúde pública, e faz-se necessário a construção de políticas públicas para seu controle.

Agradecimentos

Agradeço à Fundação Araucária pela concessão de bolsa para desenvolvimento do projeto.

Referências

AGOSTINIS, R.A; MELLO, P.L; MARTINS, L.A. Importância do mapeamento de monitoramento do perfil de resistência e detecção dos genes de *Staphylococcus* sp. relacionados à mastite bovina. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 57-65, 2012.

BOND, R., LOEFFLER, A. What's happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. **J. Small Anim Pract.**, v.53, p.147-154, 2012.

BRITO, M.A.V.P; BRITO, J.R.F; SILVA, M,A,S; CARMO, R.A. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos de amostras para *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arq Bras Med Vet Zootec**, Belo Horizonte, v. 53, n. 5, p. 531-537, 2001.

CLSI 2008. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 3rd ed. Approved standard M31-A3, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA