

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA PARA ANTIBIÓTICOS DOSE-DEPENDENTES EM BACTÉRIAS PATOGENICAS DE ORIGEM URINÁRIA DE CÃES

Gabriel da Silva Paiva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Amanda da Silva Santos, Ana Cláudia Lemes Pavan, Vanessa Kelly Capoa Vignoto, Sheila Rezler Wosiacki (Orientadora), e-mail: wosiacki@yahoo.com.br.

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

Área e subárea: Medicina Veterinária – Medicina Veterinária Preventiva

Palavras-chave: MIC, antibiótico, susceptibilidade.

Resumo:

Os casos de infecções do trato urinário (ITUs) apresentam alta prevalência em cães e gatos. Tanto bactérias Gram-positivas como bactérias Gram-negativas podem causar esta infecção. A resistência bacteriana é um fator que coloca em risco a eficiência dos antibióticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração inibitória mínima (MIC) bacteriana de antibióticos dose-dependente afim de reduzir a terapia empírica de infecções do trato urinário de cães e gatos. Foram utilizadas 32 cepas bacterianas, sendo 40,6% da ordem *Enterobacterales*, 37,5% do gênero *Staphylococcus* spp. e 21,9% do gênero *Enterococcus* spp. Para avaliação dos pontos de corte, foi utilizado os dados de *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) e *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BRCAST). Segundo o CLSI, o antibiótico que mais bactérias foram resistentes foi florfenicol, com 15 bactérias, seguido de ciprofloxacina com 7, gentamicina e amicacina, ambas com 1 cada. De acordo com os parâmetros do BRCAST, o antibiótico com mais bactérias resistentes foi também florfenicol com 18 bactérias, seguido de ciprofloxacina com 7, gentamicina e amicacina ambas com 1.

Introdução

As infecções do trato urinário (ITUs) são doenças de alta prevalência em cães, gatos e também em humanos (CARVALHO et al., 2014), sendo caracterizadas pela invasão e colonização de agentes bacterianos na vesícula urinária e/ou o segmento superior da uretra, sendo este o principal motivo para a prescrição de antibióticos (JESSEN et al., 2015). Vários tipos bacterianos podem causar ITUs, como as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo as Gram-negativas mais prevalentes, representando 75% dos casos (CARVALHO et al., 2014).

A resistência bacteriana é um tema que preocupa bastante nos dias atuais, uma vez que de forma descontrolada ela está aumentando e um dos motivos é o uso empírico desenfreado de agentes antimicrobianos na medicina veterinária (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARD, 2017).

Os antibióticos podem ser divididos em concentração-dependentes, que são aqueles que promovem ação antibacteriana de acordo com os seus níveis de

concentração sérica. O uso de fármacos concentração-dependente em doses altas com intervalos longos permite que seja alcançada concentrações máximas no local onde a ação deste é desejada, produzindo efeitos bactericida máximo (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARD, 2017).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração inibitória mínima (MIC) bacteriana de antibióticos dose-dependente afim de reduzir a terapia empírica de infecções do trato urinário de cães e gatos.

Materiais e métodos

Para a realização deste estudo, foram analisadas por meio de Concentração Inibitória Mínima (MIC) 32 cepas bacterianas isoladas e mantidas na Bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Animal da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Campus Regional de Umuarama (CAU). As cepas foram provenientes de casos clínicos no qual se tratava de ITUs atendidos no Hospital Veterinário Universitário (HVU) da UEM/CAU, no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2018.

Foi realizada a metodologia da MIC por microdiluições em Caldo Mueller Hinton (CMH), segundo CLSI (2013), utilizando-se 10 diluições de cada antibiótico mais um controle negativo e um controle positivo. Os antibióticos testados foram gentamicina, amicacina, ciprofloxacina e florfenicol. A leitura da MIC foi realizada por fluorescência com solução de resazurina 0,05%. Para *Enterococcus* spp. foi realizada a Contagem Bacteriana Mínima (MBC) por in print por meio de replicador de células em Ágar Mueller Hinton para visualização de crescimento bacteriano.

Resultados e Discussão

As 32 bactérias utilizadas neste estudo foram divididas em 3 grupos, sendo 37,5% (n=12) *Staphylococcus* spp., 21,9% (n=7) *Enterococcus* spp. e 40,6% (n=13) da ordem *Enterobacterales*.

Os resultados da MIC, descritos na Figura 1, estão representados pelas concentrações obtidas para cada antibiótico testado. Os antibióticos foram testados em concentrações acima do descrito pelo CLSI (2018) e pelo BrCas (2018) para avaliação de possíveis índices de resistência acima aos dos valores de corte. Para gentamicina e amicacina foram utilizadas concentrações iniciais de 64 µg/mL e para florfenicol de 128 µg/mL, para todos os grupos bacterianos, para ciprofloxacina de 32 µg/mL para *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. e de 16 µg/mL para enterobactérias.

Utilizando os pontos de corte descritos pelo CLSI (2018) e BRCast (2018) para gentamicina em *Staphylococcus* spp. apenas uma (8,3%) bactéria foi considerada resistente e 11 (91,7%) sensíveis. Para a ordem *Enterobacterales*, nenhuma bactéria foi considerada resistente pelos dois padrões, sendo todas as 13 enterobactérias sensíveis. O gênero *Enterococcus* spp. não possui pontos de corte em nenhuma das duas instituições que padroniza estes valores, pois de acordo com o BRCast (2018), este grupo bacteriano possui resistência intrínseca diante dos aminoglicosídeos, sendo os testes de sensibilidade utilizados para distinguir resistência intrínseca de resistência adquirida em níveis mais elevados. Os valores de MBC encontrados neste trabalho para enterococos, demonstra que são

necessárias concentrações altas para inibir o crescimento bacteriano deste gênero, pois quatro bactérias apresentaram MBC de 64 µg/mL, duas de 4 µg/mL e uma de 2 µg/mL.

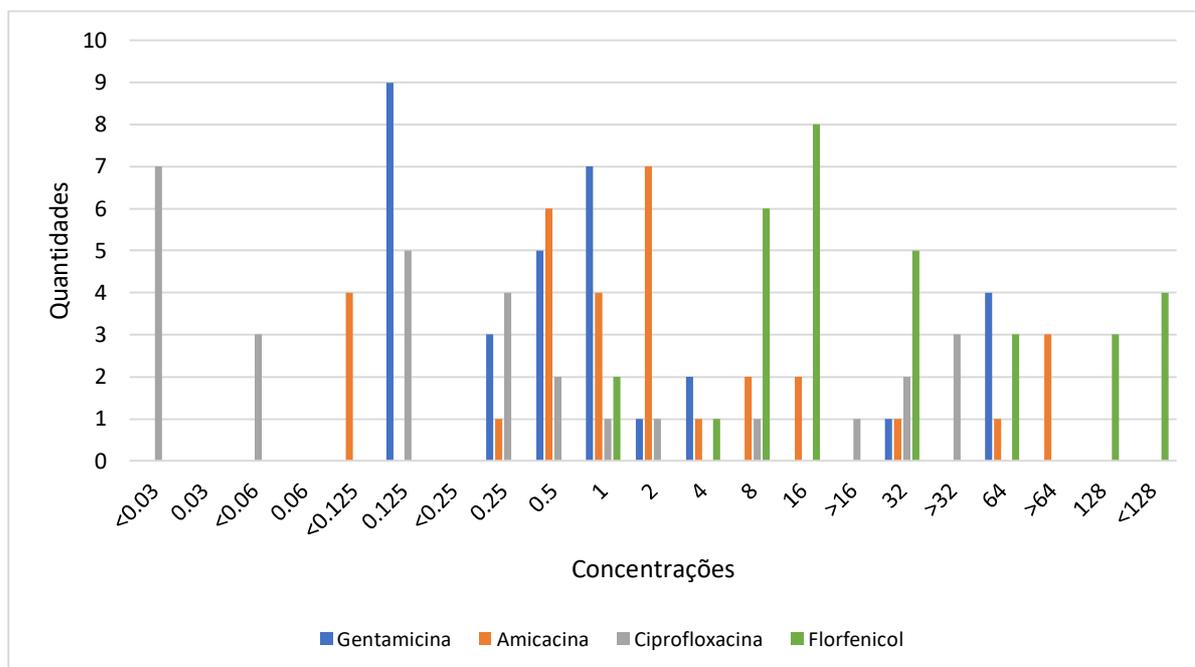


Figura 1 – Distribuição dos valores de MIC de bactérias isoladas de infecções no trato urinário de cães e gatos com antibióticos dose-dependentes.

Em relação à amicacina, utilizando o mesmo comparativo entre o CLSI (2018) e BRCast (2018), o gênero *Staphylococcus* spp. não apresentou nenhuma bactéria resistente aos pontos de corte, sendo todas (12) sensíveis para ambos os parâmetros descritos. A ordem *Enterobacterales* apresentou resistência em uma (7,7%), sendo 12 (92,3%) bactérias sensíveis. Assim como para gentamicina, o gênero *Enterococcus* spp. apresentou valores de MBC elevados, sendo para três bactérias MBC >64 µg/mL, uma de 64 µg/mL, duas de 16 µg/mL e uma de 8 µg/mL, demonstrando que possa haver resistência adquirida envolvida.

Os três grupos bacterianos apresentaram mais resistência para ciprofloxacina em relação aos aminoglicosídeos. Para o gênero *Staphylococcus* spp. houveram 2 (18,2%) bactérias resistentes e 9 (81,8%) sensíveis. O gênero *Enterococcus* spp. apresentou quatro bactérias resistentes, uma sensível e uma com valor intermediário, de acordo com os pontos de corte do CLSI (2018). Já para os parâmetros do BRCast (2018), quatro bactérias deste gênero foram classificadas como resistentes e duas como sensíveis. A ordem *Enterobacterales* apresentou uma (7,7%) bactéria resistente e 12 (92,3%) sensíveis de acordo com os parâmetros do CLSI (2018). Em relação ao BRCast, uma bactéria demonstrou sensibilidade, 11 resistência e uma ficou classificada como intermediária.

A comparação dos resultados obtidos da MIC para florfenicol foi realizada com outro antibiótico desta classe, o cloranfenicol, pois não há pontos de corte pré-estabelecidos para este antimicrobiano no CLSI (2018) e BRCast (2018). Sendo assim, a partir destes parâmetros, foi obtido para o gênero *Staphylococcus* spp. 4

bactérias resistentes, 5 sensíveis e 3 intermediárias, de acordo com os dados do CLSI (2018) e 7 bactérias resistentes e 5 sensíveis segundo o BRCAST (2018). Para *Enterococcus* spp., segundo o CLSI (2018), foram encontradas 5 bactérias resistentes e 2 sensíveis; no BRCAST (2018) não há pontos de corte para este gênero. A ordem *Enterobacterales* apresentou 6 bactérias resistentes, 2 sensíveis e 5 intermediárias, segundo o CLSI (2018); de acordo com o BRCAST (2018), 11 bactérias foram resistentes e 2 sensíveis, para este grupo bacteriano.

Conclusões

A avaliação da atividade antimicrobiana através de MIC tem se mostrado muito eficiente, pois através dela é possível identificar a menor concentração necessária para impedir o desenvolvimento bacteriano, e isto associado com estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos podem otimizar as doses necessárias a serem utilizadas em infecções causadas por patógenos semelhantes às deste trabalho.

Agradecimentos

Agradeço ao apoio financeiro dado pelo CNPq, bolsa PIBIC-UEM, Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná (edital 001/2016); Laboratório de Microrganismos de Referência da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Referências

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - BrCAST Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halo. **Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing**, 65 p., 2018.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

CARVALHO, V. M. et al. Infecções do trato urinário (ITU) de cães e gatos: etiologia e resistência aos antimicrobianos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 34, n. 1, p. 62-70, 2014.

JESSEN, L. R. et al. Effect of antibiotic treatment in canine and feline urinary tract infections: A systematic review. **The Veterinary Journal**, vol. 203, n. 3, p. 270-277, 2015.

SPINOSA, H. D.S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARD, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.