



VERIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS RESISTENTES A BETA LACTÂMICOS NO LEITE DE BOVINOS DO IFC – CAMPUS CAMBORIÚ

Autores: Tiago Fambomel de Sucena BOTELHO¹; Érica Garz FERNANDES², Juliana GRANDI³; Renata OGUSUCU⁴;

Identificação autores: ¹Aluno do Curso Técnico Integrado em Controle Ambiental, IFC – Campus Camboriú; ²Aluna do Curso Técnico Integrado em Controle Ambiental, IFC-Campus Camboriú; ³Médica Veterinária no IFC – Campus Camboriú; ⁴Orientadora, professora do IFC-Campus Camboriú.

RESUMO

A mastite bovina é um processo geralmente decorrente de infecções bacterianas que causam prejuízos aos produtores de leite. O uso de antibióticos é importante para o tratamento dessas infecções, mas nos últimos anos, a disseminação de bactérias “multirresistentes” tornou o uso desses medicamentos mais parcimonioso. Com o objetivo de detectar a presença de bactérias resistentes a penicilina foi investigada em amostras de leite de 11 vacas do setor de Bovinocultura do Leite do IFC - Camboriú. Durante os experimentos não foram detectadas bactérias resistentes para esse antibiótico - informação relevante para o acompanhamento dos animais presentes no setor.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Um dos principais transtornos que afligem a produção leiteira é a mastite, processo infeccioso que causa inflamação da glândula mamária (úbere), que geralmente é adquirida em decorrência de problemas no gerenciamento da ordenha (COSTA, 1991). Estima-se que essa doença cause uma perda de 12 a 15% da produção de leite no Brasil (EMBRAPA GADO DE LEITE, 201?).

A utilização de antibióticos no tratamento da mastite é imprescindível, porém a falta de diagnóstico adequado e o uso frequente desses medicamentos podem desencadear problemas futuros para os animais e para a produção. A resistência microbiana a antibióticos é um grande problema para a medicina, pois os genes de resistência podem ser transferidos para outras bactérias (inclusive da microbiota humana) por mecanismos diversos, podendo agravar diversos quadros clínicos, além de estar relacionada à indução de alergias e ao desenvolvimento de bactérias resistentes (MOTA, 2015).

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo detectar a presença de bactérias resistentes à penicilina em amostras de leite de onze vacas do setor de Bovinocultura de Leite do IFC - *Campus Camboriú*.

METODOLOGIA

1. Coleta do leite

Dentre as 16 vacas (bovinos) leiteiras em produção no setor de Bovinocultura do Leite do IFC-Campus Camboriú, foram selecionadas 11. Destas, cinco foram escolhidas por terem parido até 60 dias antes da primeira coleta e cinco por terem apresentado histórico de mastite. Um animal foi escolhido como controle porque não se enquadrava em nenhuma dessas condições.

Para as coletas foram utilizados frascos de vidro com tampa, esterilizados em autoclave. Foram coletados dos quatro tetos de cada animal, 20 mL de leite. Após a coleta, o material foi imediatamente levado ao laboratório para a execução dos experimentos.

2. Detecção de bactérias resistentes - varredura inicial

As amostras de leite (100 mL de leite por placa) foram semeadas em placas de Petri com meio de cultura “extrato de levedura”, suplementado com os princípios ativos de Benzilpenicilina G e Sulfato de Neomicina em uma quantidade suficiente para que a concentração final de benzilpenicilina fosse 10 U. Como controle foram utilizadas placas com o mesmo meio de cultura sem o acréscimo de antibiótico.

As colônias bacterianas que cresceram no meio suplementado com os princípios ativos foram consideradas preliminarmente como “resistentes ao antibiótico”. Posteriormente, essas colônias foram inoculadas em caldo LB e congeladas em glicerol 20% para serem utilizadas em experimentos seguintes.

3. Confirmação da resistência ao antibiótico

A confirmação da resistência ao antibiótico das colônias isoladas na varredura inicial foi realizada através de antibiogramas, utilizando-se discos de Penicilina G (Laborclin), seguindo-se as instruções do fabricante. Como controle, foram utilizados discos de papel filtro imersos em água estéril.

RESULTADOS E DISCUSSÕES



As amostras de leite das vacas escolhidas para a realização deste trabalho foram plaqueadas inicialmente em placas de Petri contendo meio de cultura suplementado com o medicamento contendo Benzilpenicilina G e Sulfato de Neomicina. A preparação dessas placas foi complicada devido à pequena quantidade dos princípios ativos que precisavam ser aliquotados e a dificuldade de homogeneizar esse medicamento no meio de cultura. Esse problema pode ter causado pequenas variações da concentração de antibiótico presente na varredura inicial.

As colônias que cresceram nas placas de cultura suplementadas com Benzilpenicilina G e Sulfato de Neomicina (colônias positivas) foram congeladas e a possível resistência à penicilina foi confirmada através de antibiogramas. O número de colônias positivas obtidas de cada animal testado pode ser observado na tabela 1.

Tabela 1. Número de colônias “resistentes à penicilina” obtidas de amostras de leite das vacas estudadas.

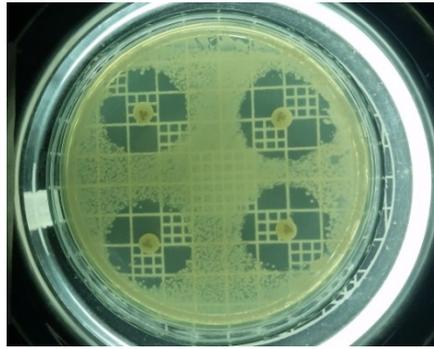
Bovino Leiteira	Número de colônias positivas
Animal 4	6
Animal 8	6
Animal 11	4

Fonte: Este trabalho

Para confirmar a resistência a penicilina das colônias obtidas na varredura inicial foram realizados antibiogramas com discos de Penicilina G, seguindo-se as instruções do fabricante dos discos de inibição (Laborclin). Nesses experimentos todas as culturas obtidas de colônias consideradas positivas na varredura foram sensíveis a Penicilina G, evidenciando a ausência de bactérias resistentes a esse antibiótico nas amostras coletadas.

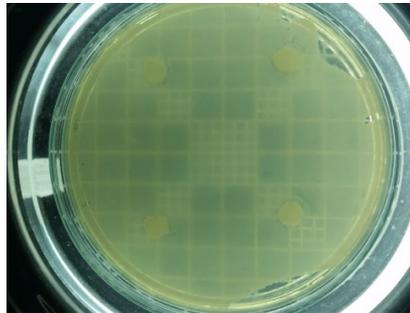
As figuras 1 e 2 apresentam os resultados obtidos com a cultura 14 isolada na varredura inicial do leite do Animal 4, mas são representativas dos experimentos realizados de maneira similar com amostras de outras vacas.

Figura 1. Antibiograma mostrando os halos de inibição do crescimento bacteriano na presença de discos de penicilina G.



Fonte: Este trabalho

Figura 2. Antibiograma mostrando a ausência de halos de inibição do crescimento bacteriano na presença de discos de papel filtro sem antibiótico.



Fonte: Este trabalho

Os antibióticos são importantes para o tratamento de infecções bacterianas em diversas espécies que são criadas para consumo humano. O uso desses medicamentos é realizado para diminuir o sofrimento desses animais e também para evitar a transmissão de micro-organismos patogênicos para humanos (FDA, 2000). O uso de antibióticos gerou (e ainda gera) uma pressão seletiva, pois bactérias resistentes tem taxa de sobrevivência maior e deixam mais descendentes, aumentando a proporção de linhagens resistentes a antibióticos a cada geração. Além da transmissão vertical, bactérias podem transferir genes horizontalmente através da conjugação, disseminando ainda mais a resistência a antibióticos (LANDERS et al., 2012). O uso indiscriminado de antibióticos tem sido apontado como um fator importante para a disseminação das chamadas “bactérias multirresistentes”, deste modo, o monitoramento da presença dessas bactérias em animais de criação e em humanos é importante para a decisão dos tratamentos que serão utilizados. A aplicação de um antibiótico ineficiente contra a linhagem bacteriana que está infectando os animais dissemina ainda mais os genes de



resistência a antibióticos na natureza, implicando em prejuízos no curto prazo (pois o medicamento não eliminaria a bactéria patogênica do animal em tratamento) e no médio prazo (pois a frequência de genes de resistência seria ampliada na microbiota dos animais do local, dificultando o tratamento de infecções subsequentes).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho indica a ausência de bactérias resistentes à penicilina G no leite dos animais estudados. Embora a relevância do resultado, o procedimento utilizado precisa ser aperfeiçoado e ampliado para incluir amostras de mais animais e testes com diferentes antibióticos, auxiliando de forma efetiva nos cuidados com os bovinos leiteiros do IFC – Campus Camboriú.

REFERÊNCIAS

COSTA, ELIZABETH OLIVEIRA DA. Importância da mastite na produção leiteira do país. *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP*. São Paulo, fascículo I, volume I, p.003 – 009,1998.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Controle de mastite**. Disponível em:
<<http://www.cnpqgl.embrapa.br/sistemaproducao/410216-controle-de-mastite>>. Acesso em: 11 set. 2017.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, *Judicious Use of Antimicrobials for Dairy Cattle Veterinarians*. 2000. Disponível em:
<<https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/JudiciousUseofAntimicrobials/UCM095571.pdf>> Acesso em 04 ago 2017

KRUG, Ernesto Enio Budke et al. *Manual da produção leiteira*. 2. ed. Porto Alegre: Cooperativa Central Gaúcha de Leite, 1992. 730 p.

LANDERS, Timothy F. et al. A Review of Antibiotic Use in Food Animals: Perspective, Policy, and Potential. *Public Health Reports*, v. 127, n. 1, p.4-22, jan. 2012.

MOTA, Rinaldo Aparecido et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, Recife, v. 42, n. 6, p.465-470, jun. 2005. Disponível em:
<<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26406>>. Acesso em: 31 maio 2016