

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC

UFRGS
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	Resistência a antimicrobianos na microbiota de pinguins: estabelecimento de uma referência para a resistência a antimicrobianos na microbiota de aves
Autor	ROSANA THALIA MEREGALLI
Orientador	HOMERO DEWES

Resistência a antimicrobianos na microbiota de pinguins: estabelecimento de uma referência para a resistência a antimicrobianos na microbiota de aves
Rosana Meregalli, Homero Dewes (orient.) (UFRGS)

Populações de aves marinhas antárticas possuem grande representatividade ecológica e são consideradas sentinelas de mudanças ambientais ocorridas no ecossistema antártico. Os pinguins representam 90% da biomassa da região antártica, contendo três espécies em predominância: *Pygoscelis antarcticus*, *P. papua* e *P. adeliae*. Considerando que essas espécies estão entre as aves selvagens que apresentam menor contato com humanos, a microbiota dos pinguins antárticos possui potencial para ser um indicador da presença natural de genes de resistência a antimicrobianos. Ao contrário dos pinguins antárticos, os pinguins-de-magalhães (*S. magellanicus*) habitam o sul da América do Sul e migram à plataforma continental da costa brasileira durante o inverno austral para se alimentarem. O objetivo deste trabalho é identificar a presença de genes de resistência a antimicrobianos em bactérias provenientes da microbiota intestinal dos pinguins antárticos *P. antarcticus* e *P. papua* e compará-las com as de *S. magellanicus*. Foram coletadas 46 amostras de fezes frescas de *P. antarcticus* e 12 de *P. papua* de colônias na Ilha Elefante, Antártida, em dezembro de 2014; as fezes foram armazenadas *in natura* a -20 °C durante o transporte e então a -80 °C até a sua utilização. As amostras de *S. magellanicus* foram coletadas de pinguins que chegaram ao CERAM/CECLIMAR da UFRGS (Imbé, RS), por suabe cloacal, durante os meses de inverno de 2014 e 2015, e foram armazenadas em meio Stuart (específico para suabe) a 4 °C até sua utilização. As amostras foram enriquecidas em caldo BHI e então submetidas ao crescimento na presença de antimicrobianos de acordo com protocolo de Concentração Inibitória Mínima, descrito no CLSI (2013). Os quatro antimicrobianos utilizados foram eritromicina, vancomicina, tetraciclina e estreptomicina. Dentre as amostras de *P. antarcticus* que tiveram crescimento bacteriano em caldo BHI ($n = 38$), quatro apresentaram crescimento bacteriano em eritromicina ($\geq 8 \mu\text{g/mL}$); uma amostra cresceu em vancomicina ($\geq 32 \mu\text{g/mL}$); seis amostras cresceram em tetraciclina ($\geq 16 \mu\text{g/mL}$) e uma, em estreptomicina ($\geq 2000 \mu\text{g/mL}$). Dentre as amostras de *S. magellanicus* ($n = 19$), três cresceram na presença de eritromicina ($\geq 8 \mu\text{g/mL}$), uma em vancomicina ($\geq 32 \mu\text{g/mL}$), onze em tetraciclina ($\geq 16 \mu\text{g/mL}$) e duas em estreptomicina ($\geq 2000 \mu\text{g/mL}$). Nenhuma das amostras de *P. papua* que tiveram crescimento bacteriano em caldo BHI ($n = 6$) cresceu na presença dos antimicrobianos testados. A extração de DNA dos isolados resistentes foi feita por lise alcalina; para extração de DNA das fezes dos pinguins antárticos, utilizou-se o kit de extração de DNA QIAamp FAST DNA Stool Mini Kit (Qiagen). As amostras que apresentaram resistência fenotípica a pelo menos um dos antimicrobianos testados foram triadas por PCR para a presença dos respectivos genes de resistência - *erm(B)* (eritromicina), *tet(M)* (tetraciclina), *van(B)* (vancomicina) e *int* (transposon Tn916). O gênero bacteriano dos isolados resistentes foi determinado por meio da análise da sequência do 16sRNA. Dos isolados resistentes à eritromicina das amostras de *P. antarcticus*, foi identificado o gênero *Staphylococcus* sp.; o gene de resistência *erm(B)* não foi verificado. Do isolado resistente à vancomicina, o gênero ainda não foi identificado, e apresenta o gene de resistência *van(B)*. Dos isolados resistentes à tetraciclina, foram identificados os gêneros *Staphylococcus* sp., *Serratia* sp., *Citrobacter* sp. e *Enterococcus* sp., este último apresentando *int* e *tet(M)*, concomitantemente. No isolado resistente à estreptomicina, o gênero identificado foi *Enterococcus* sp.; não foi verificada a presença de genes de resistência. Dentre os isolados resistentes à eritromicina das amostras de *Spheniscus magellanicus*, foi identificado o gênero *Staphylococcus* sp., e não foi encontrado o gene de resistência *erm(B)*. Nos isolados resistentes à vancomicina, não foi possível identificar o gênero, e não se verificou o gene de resistência *van(B)*. Nos isolados resistentes à tetraciclina, os gêneros identificados foram *Vagococcus* sp., *Aeromonas* sp., *Citrobacter* sp., *Enterococcus* sp., *Serratia* sp. e *Escherichia* sp.; foi verificado o gene de resistência *tet(M)* nos três últimos gêneros citados. Nos isolados resistentes à estreptomicina, foi identificado o gênero *Serratia* sp., havendo outra amostra contendo microrganismo ainda não identificado; não foi verificada presença de genes de resistência. No DNA total das amostras de *P. antarcticus* ($n = 25$), uma amostra apresentou o gene de resistência *tet(M)*, cinco apresentaram *int*, uma apresentou *van(B)* e nenhuma continha o gene *erm(B)*. No DNA total das amostras de *P. papua* ($n = 8$), uma amostra apresentou o gene de resistência *erm(B)*, cinco apresentaram o gene *tet(M)*, sete apresentaram *int* e uma amostra continha o gene *van(B)*. De acordo com os resultados, a resistência a antimicrobianos foi maior em isolados da fração cultivável de pinguins-de-magalhães do que em isolados de pinguins antárticos. Ademais, em *P. papua* que de *P. antarcticus*, verificou-se maior presença de genes de resistência no DNA total de fezes do que na fração cultivável. O isolamento de bactérias resistentes a antimicrobianos no ambiente antártico indica que a resistência pode ser decorrente da atividade antrópica, mesmo que remota, além de que pode ser oriunda da contaminação de rios e oceanos. Outra possibilidade é que a resistência observada é natural, sem associação de interação com o homem ou agentes poluentes. A presença comparativamente baixa de isolados resistentes a antimicrobianos nas fezes de pinguins antárticos sugere que a microbiota de animais que habitam o ambiente antártico pode ser usada como parâmetro para a resistência basal presente na microbiota de aves.