

RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS NA MICROBIOTA DE PINGUINS: ESTABELECIMENTO DE UMA REFERÊNCIA PARA A RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS NA MICROBIOTA DE AVES

Rosana Meregalli, Homero Dewes
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador e segundo maior produtor mundial de carne de frango, tendo produzido 13,05 milhões de toneladas de carne de frango em 2017 (ABPA, 2018). Dentre os fatores que causam diminuição da produtividade e aumento nos custos da avicultura brasileira estão infecções bacterianas, que são controladas através do tratamento com agentes antimicrobianos. Porém, a exportação brasileira de carne de frango tem sofrido com barreiras não-tarifárias impostas pelos países importadores, que restringem o uso de antimicrobianos na criação dos frangos de corte, sob a alegação de que essa prática causa a emergência e disseminação de resistência. Essa restrição/proibição tem dificultado o combate a infecções, com consequente diminuição da produtividade.

OBJETIVO

O objetivo deste projeto é comparar a resistência a antimicrobianos presente na microbiota de três espécies de pinguins da região antártica com a resistência presente na microbiota de frangos de corte. Dentre as amostras de fezes de pinguins antárticos testadas anteriormente, apenas 10 de 44 apresentaram resistência. Como os pinguins antárticos estão entre as aves marinhas de menor contato com a ação humana direta, a resistência a antimicrobianos encontrada na sua microbiota pode servir como parâmetro para a resistência encontrada na microbiota de frangos de corte.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de fezes de 48 frangos de corte em aviários nas regiões Norte e Centro-Leste do Rio Grande do Sul em meados de 2016 pela equipe do Dr. Benito G. de Brito (Fepagro-RS). As amostras foram transportadas sob refrigeração (banho de gelo) e armazenadas a -80 °C. Os antimicrobianos escolhidos para serem utilizados neste trabalho são representados por quatro classes: macrolídeos (eritromicina), glicopeptídeos (vancomicina), tetraciclina e aminoglicosídeos (estreptomicina). Adicionou-se 30 a 60 mg de fezes em 900 µL de solução salina (PBS 1X); 10 µL dessa suspensão foram inoculados em placas de LB ágar na presença dos quatro antimicrobianos, em concentrações pré-estabelecidas para *Enterococcus* sp. de acordo com o CLSI (CLSI, 2016). As amostras que cresceram na triagem em presença dos antimicrobianos foram submetidas ao protocolo de CIM (CLSI, 2016), utilizando os mesmos antimicrobianos. Dos isolados resistentes (que cresceram em concentrações elevadas no CIM), foi feita coloração de gram, extração de DNA através de lise alcalina e triagem por PCR para os respectivos genes de resistência: *erm(B)* – eritromicina, *tet(M)* – tetraciclina e *van(B)* – vancomicina. As espécies bacterianas foram identificadas por MALDI-TOF.

RESULTADOS

Até o momento, analisei 25 das 48 amostras de fezes de frangos de corte.

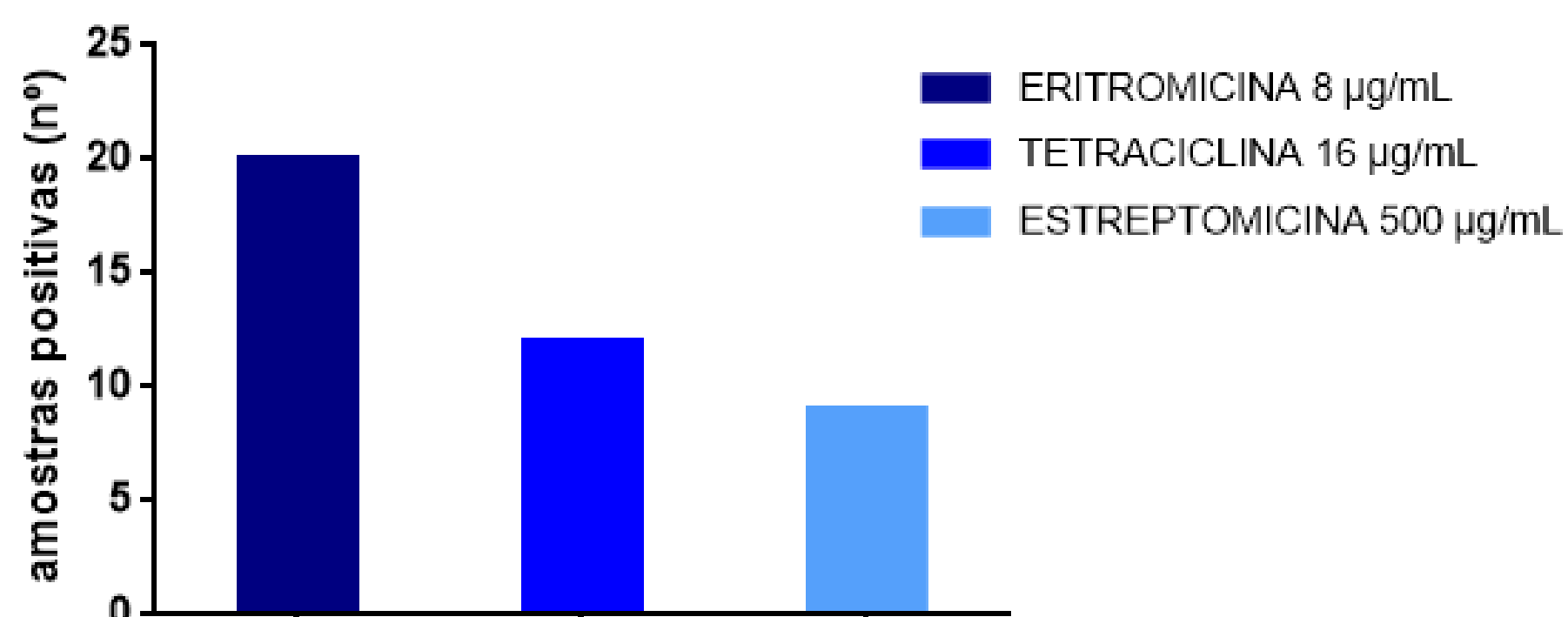


Figura 1. Amostras de fezes de frangos de corte (n = 20) com bactérias resistentes aos antimicrobianos testados.

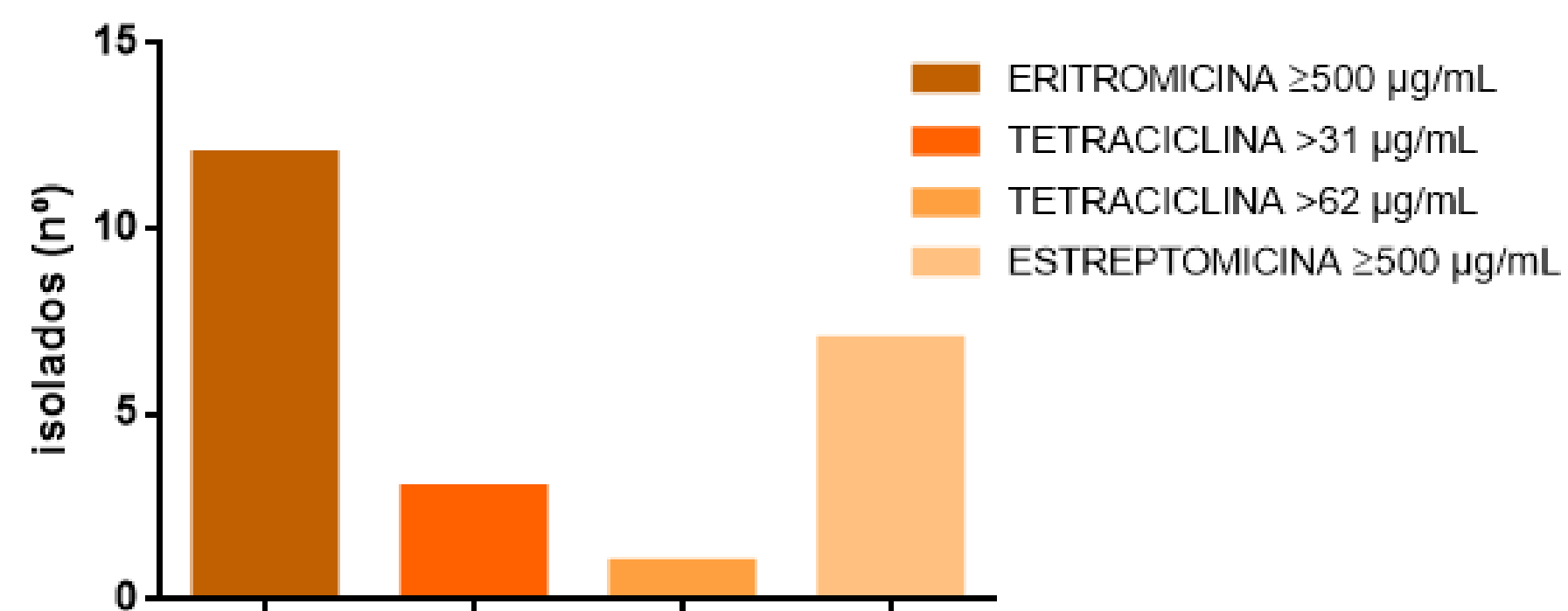


Figura 2. Isolados gram-positivos resistentes aos antimicrobianos testados.

Foi realizada PCR para os genes *erm(B)*, que codifica resistência à eritromicina, e para *tet(M)*, que codifica resistência à tetraciclina. Dos 12 isolados resistentes à eritromicina, 4 apresentaram o gene *erm(B)*; dos 4 isolados resistentes à tetraciclina, 3 apresentaram o gene *tet(M)*. Não encontramos isolados gram-positivos resistentes à vancomicina.

Tabela 1. Espécies bacterianas identificadas (até o momento) e genes de resistência presentes nas amostras de frangos de corte (*Gallus gallus*).

Isolados resistentes	CIM (µg/mL)	<i>erm(B)</i>	<i>tet(M)</i>	<i>int</i>
ERITROMICINA				
<i>Staphylococcus simulans</i> (Gg 5)	≥500	-		
<i>Staphylococcus simulans</i> (Gg 11)	≥500	-		
Identificação não confiável (Gg 28)	≥500	-		
TETRACICLINA				
Não identificado (Gg 5)	62		+	
ESTREPTOMICINA				
<i>Enterococcus gallinarum</i> (Gg 5)	≥500			
<i>Enterococcus faecalis</i> (Gg 11)	≥500			

CIM: Concentração Inibitória Mínima

OBS.: As células em branco indicam que a PCR não foi realizada, pois o gene não responderia pela resistência.

CONCLUSÕES

As amostras de fezes de frangos de corte têm apresentado maior resistência aos antimicrobianos testados que as amostras de fezes de pinguins antárticos. A continuação desse trabalho envolverá o seguimento das análises das amostras de frangos de corte, sendo feitas determinação do fenótipo de resistência e pesquisa dos genes de resistência aos antimicrobianos, além da análise do DNA total das fezes de frango de corte, visando observar a resistência encontrada nas frações cultiváveis e não cultiváveis da amostra.

REFERÊNCIAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. 2018. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>. Acessado em 12 de setembro de 2018.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.

