Estudo da susceptibilidade aos antimicrobianos de enterobactérias isoladas de leite de transição bovino *in natura* e fermentado

Fernanda Antunes Martins[1]; Ingrid Caroline da Silva[2]; Gabrielle Marcondes[3]; Alana Cristine de Sousa[4]; Valquiria Nanuncio Chochel[5]; Bianca Letícia Barbosa[6]; Luciana da Silva Leal Karolewski[7]; Ester deMoura Rios[8]

[1]Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG. E-mail: fernandaantunesmartins@outlook.com; [2]Zootecnista. E-mail: ingrid_caroline95@hotmail.com; [3]Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG. E-mail:gabi_marconds@hotmail.com; [4]Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG. E-mail:cristine.lanasousa@gmail.com; [5]Bióloga e Mestre em Gestão do Território-UEPG. E-mail: vmnanuncio@uepg.br; [6]Zootecnista. E-mail: bialet_barbosa@hotmail.com; [7]Médica Veterinária, Docente do Curso de Zootecnia-UEPG. E-mail:lu_s_leal@yahoo.com.br; [8]Engenheira Agrônoma, Docente do Curso de Biologia-UEPG. E-mail:estermourarios@yahoo.com.br .

Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar o perfil de sensibilidade aos antibióticos de enterobactérias isoladas de leite de transição bovino *in natura* e fermentado por 21, 30 e 60 dias. Para o isolamento utilizou-se a diluição seriada e inoculação em meios seletivos e, para o antibiograma, a técnica de difusão em discos de acordo com Kirby e Bauer. Foram obtidas enterobactérias do leite de transição *in natura* e fermentado por 30 dias. Aos 60 dias não foram isoladas enterobactérias. Todos os isolados foram sensíveis aos antibióticos ciprofloxacina, enrofloxacina, cloranfenicol, norfloxacina e ceftiofur. Porém foram obtidos isolados resistentes frente às seguintes classes: inibidores de beta-lactamases, tetraciclina (doxiciclina), aminoglicosídeo (gentamicina), meropenem e sulfazotrin. 56% dos isolados do leite de transição *in natura* apresentaram o índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IMRA) ≥ 0,3. Aos 30 dias de fermentação não foram isolados enterobactérias multirresistentes. A fermentação do leite de transição bovino por um período acima de 30 dias pode reduzir o risco de transmissão de enterobactérias patogênicas multiresistentes.

Palavras-chave: antibiograma; fermentação; micro-organismos; resistência.

1. Introdução

O leite de transição bovino obtido a partir da segunda até a oitava ordenha após o parto é um produto não comercializável na cadeia produtiva do leite e o excedente eventualmente descartado. As propriedades nutricionais e probióticas tornam este produto desejável para a indústria de suplementos ou como sucedâneo de baixo custo na alimentação de bezerros. No entanto, de acordo com Azevedo R. A. (2014), deve-se garantir a qualidade microbiológica, evitando-se a transmissão de agentes patogênicos. A contaminação do leite por agentes patogênicos pode ter origem endógena ou exógena. As enterobactérias incluem espécies patogênicas multiresistentes responsáveis pela morbidade e mortalidade de bezerros (TEBALDI, 2007).

Técnicas de armazenamento e preservação de leite de transição têm sido propostas, dentre elas a silagem de colostro ou de leite de transição bovino fermentado, apesar das discussões referentes à propagação de bactérias mutiresistentes aos antibióticos, nos estudos de Saalfeld M. H. (2008) e Vitola et al. (2016). Através de antibiogramas é possível reduzir o uso inadequado de antimicrobianos e a seleção de micro-organismos resistentes. Este trabalho teve por objetivo avaliar o padrão de sensibilidade aos antibióticos das enterobactérias predominantes no leite de transição bovino *in natura* e fermentado por até 60 dias (ANVISA, 2013).

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Escola "Capão da Onça" (FESCON), localizada em Ponta Grossa – PR, no período de junho de 2017 a junho de 2018. Foram coletados os leites de transição de oito vacas leiteiras, entre o 1º e o 3º dia pós-parto, armazenados em garrafas plásticas PET de 500 mL em condição de anaerobiose à temperatura ambiente. Realizou-se a análise microbiológica do leite *in natura* (D0) e aos 21 (D21), 30 (D30) e 60 (D60) dias de fermentação. Para quantificação e isolamento das enterobactérias utilizou-se o método da diluição seriada e inoculação em Ágar MacConkey e Ágar EMB. Os morfotipos predominantes caracterizados como bacilos Gram-negativos e oxidase-negativos foram testados. Para o antibiograma foi utilizada a técnica de difusão em disco de Kirby e Bauer. Os antibióticos testados foram: penicilina, sulfazotrim, meropenem, doxiciclina, enrofloxaxina, amoxicilina, cefoxitina, ciprofloxacin, ceftiofur, gentamicina, tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina e norfloxaxin. O índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IRMA) foi calculado para cada isolado, conforme krumperman (1983); e consiste em dividir o número de classes de antibióticos em que o isolado é resistente pelo número total de classes de antibióticos testados.

3. Resultados e Discussão

Aos 60 dias de fermentação não foram isoladas enterobactérias. O perfil de susceptibilidade dos isolados D0, D21 e D30 encontra-se na Tabela 01. Todos foram sensíveis aos antibióticos de amplo espectro: fluorquinolonas (Ciprofloxacino, enrofloxacino e Norfloxacino), anfenicóis (cloranfenicol) e à cefalosporina de terceira geração (Ceftiofur).

Tabela 01 – Frequência relativa em percentagem de enterobactérias sensíveis aos antibióticos em leite de transição *in natura* e fermentado. Fazenda Capão da Onça. Ponta Grossa, PR. 2018

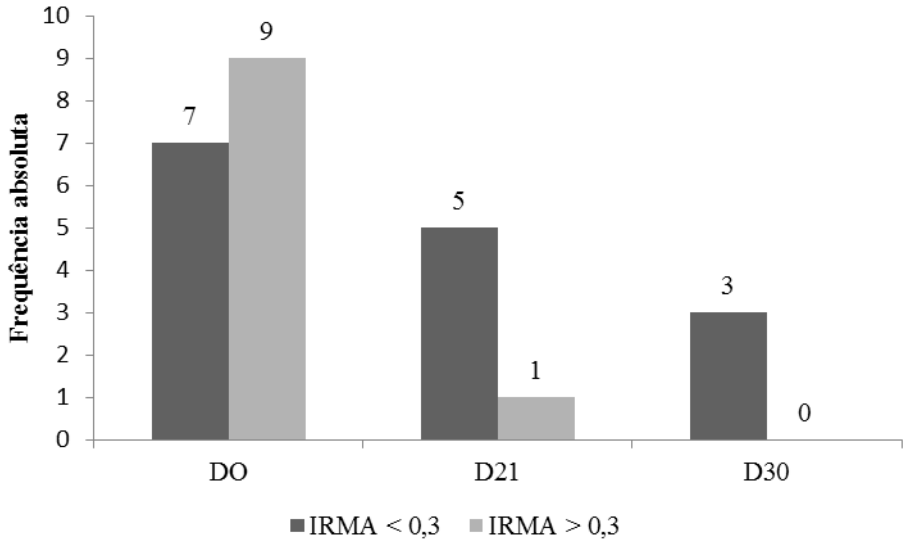
Antibiótico	*In natura*	Fermentado
Ciprofloxacino	100 (16)*	100 (8)
Cloranfenicol	100 (7)	100 (3)
Ceftiofur	100 (8)	100 (3)
Enrofloxacino	100 (12)	100 (7)
Norfloxacino	100 (8)	100 (3)
Gentamicina	94 (16)	100 (9)
Sulfazotrin	93 (15)	63 (8)
Doxiciclina	88 (8)	100 (3)
Meropenen	88 (16)	100 (9)
Cefoxitina	56 (16)	75 (8)
Amox/Clav	50 (16)	86 (7)
Ampicilina	50 (12)	67 (9)
Penicilina	0 (7)	0 (2)

*(n): número de colônias analisadas

As enterobactérias possuem resistência intrínseca para penicilina que foi utilizada neste experimento como controle. Alguns isolados apresentaram resistência aos inibidores de beta-lactamases (amoxicilina/ácido clavulâmico e ampicilina). A sensibilidade variável das enterobactérias frente à cefoxitina, tetraciclina (doxiciclina), aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina), carbapenêmicos (meropenem) e sulfametoxazol/trimetoprin (sulfazotrin) foi confirmada.

Bactérias multirresistentes foram encontradas nos tratamentos D0 e D21 (Figura 01) e 56% dos isolados do leite de transição *in natura* apresentaram IRMA ≥ 0,3. Isolados com IRMA ≥ 0,3 são considerados fonte potencial de transmissão de genes de resistência (KRUMPERMAN, 1983).

Figura 01 - Frequências absolutas de enterobactérias conforme Índice de Resistência Múltipla aos Antimicrobianos (IRMA) em leite de transição bovino *in natura* (D0) e fermentado por 21 dias (D21) e 30 dias (D30). Fazenda Capão da Onça. Ponta Grossa, PR. 2018



4. Conclusão

A fermentação do leite de transição bovino por um período acima de 30 dias pode reduzir o risco de transmissão de enterobactérias patogênicas multiresistentes.

5. Referências

ANVISA – Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes. Nota técnica no 01/2013. Brasília, DF, p. 22, 2013.

AZEVEDO, R. A. et al. Silagem de colostro: riscos microbiológicos e caracterização do pH em função do dia de coleta. *Revista Brasileira de Medicina Veterinaria*, Minas Gerais, v. 36, p. 271-276, 2014.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied Environmental Microbiology*, v.46, n.1, p.165-170, 1983.

SAALFELD, M. H. Uso da silagem de colostro como substituto do leite na alimentação de terneiras leiteiras. *A Hora Veterinária*, v. 162, p. 59-62, 2008.

TEBALDI, V. M. R. et al. Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais. *Ciência Agrotécnica*, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1085-1088, 2007.

VITOLA, H. R. S. et al. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias acido láticas isoladas de silagem de colostro. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2016, Gramado. Anais Eletrônicos: SBCTA Regional. Gramado: FURGS, 2016. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/xxvcbcta/anais> Acesso em 20 de ago. 2018.