

BIC-UCS

Avaliação da sensibilidade a antibióticos de *Neisseria* spp. isoladas da cavidade oral canina.

Projeto: Micro-oral

Wesley Renosto Lopes, Lucas Dorenelles dos Reis, Mauricio Tavares, Ana Paula Longaray Delamare, Sergio Echeverrigaray



**LEMA
INBI/UCS**
Laboratório de
Enologia e
Microbiologia
Aplicada

Introdução / Objetivo

A qualidade de vida dos animais de companhia está fortemente ligada a saúde oral, sendo a doença periodontal um dos fatores mais preocupantes, acometendo cães com idade a partir dos 3 anos e presente em cerca de 80 a 85% dos cães. Para isso, a indústria farmacêutica disponibiliza no comércio produtos que combatam a formação da placa bacteriana e halitose, utilizados tanto para uso profilático como terapêutico. Na terapia de gengivites, e particularmente, de periodontites, além dos processos cirúrgicos empregam-se antibióticos. Por outro lado, são poucos os trabalhos disponíveis quanto a resistência/susceptibilidade a antibióticos por parte de microrganismos associados a doenças periodontais em cães. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a susceptibilidade a antibióticos por parte de bactérias do gênero *Neisseria* isoladas da cavidade oral de cães saudáveis, com gengivite e com periodontite.

Experimental

Bactérias: No trabalho foram avaliados 29 isolados de *Neisseria* sp. previamente classificados através de sequenciamento parcial do gene 16S rRNA e comparação das sequências com as disponíveis no GenBank, empregando o programa nBLAST. Os isolados foram mantidos em meio Muller-Hinton + 5% de sangue equino.

Antibiogramas: A sensibilidade/resistência a 29 antibióticos (Tabela 1) foi avaliada através do método de difusão em placas utilizando ágar Muller-Hinton (Difco) + 5% de sangue equino, conforme preconizado pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015). As bactérias foram pré-cultivadas por 24h em caldo BHI, sob agitação de 120 rpm. Estas culturas foram empregadas para semear as placas com o auxílio de alça de Drigalski. Os discos foram dispostos sobre o meio. As placas foram incubadas a 30 °C por 24h, e avaliado o diâmetro dos halos de inibição (mm) com o auxílio de um paquímetro digital (Figura 1). A interpretação de resistência e/ou susceptibilidade aos antibióticos foi realizada conforme preconizado no CLSI (2015), baseada, principalmente, em dados de *Neisseria gonorrhoeae*, enterobactérias, e bactérias de origem canina. Cabe ressaltar que não são disponíveis tabelas específicas para *Neisseria*, ou outras bactérias orais de cães.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos mostraram que os isolados de *Neisseria* apresentaram, em média, susceptibilidade a 23,4% dos antibióticos avaliados. Os antibióticos com maior número de isolados resistentes (R) ou intermediários (I), isto é, com baixa eficiência no controle de *Neisseria* de origem oral canina, foram a clindamicina (50% R e 42% I), o metronidazol (61% R e 5% I) e a penicilina (7% R e 93% I) (Tabela 1). Em média, os isolados de *Neisseria* apresentaram sensibilidade a 85,2%, susceptibilidade intermediária a 8,5% e resistência a 6,3% dos antibióticos avaliados (Tabela 1).

Não foi observada diferença significativa na frequência de sensibilidade/resistência aos antibióticos analisados entre *Neisseria* isoladas de cães controle, com gengivite e com periodontite.

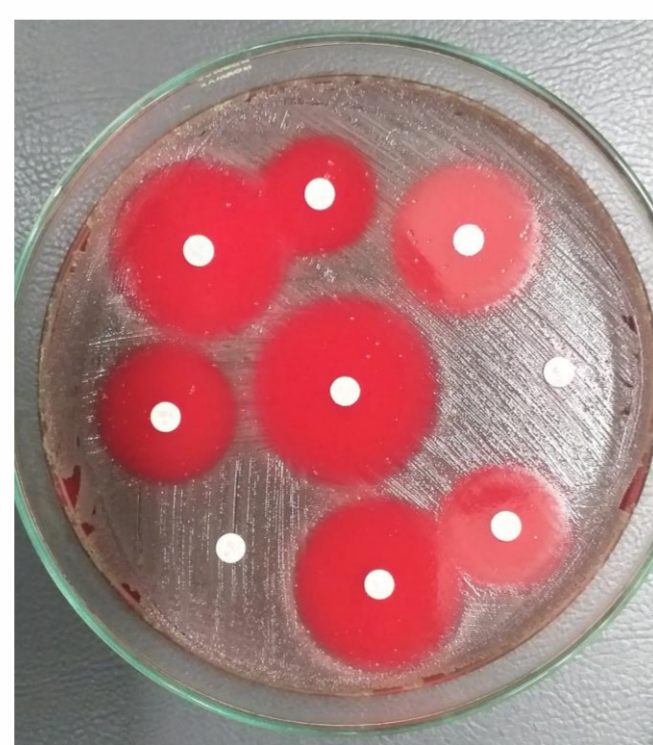


Figura 1- Exemplo de halos de inibição – antibiograma de *Neisseria* spp.

Resultados e Discussão

Tabela 1- Sensibilidade/resistência a antibióticos em *Neisseria* spp. Isoladas de cavidade oral de cães saudáveis, com gengivite e com periodontite. Valores percentuais.

Antibiótico	Disco	S	I	R
Amoxicilina + Ác. Clavulânico	AMC 30	92.9	0.0	7.1
Amoxicilina	AMO 10	92.9	0.0	7.1
Ampicilina	AMP 10	96.4	0.0	3.6
Azitromicina	AZI 15	96.4	0.0	3.6
Cefadroxil	CFD 30	82.1	10.7	7.1
Cefalexina	CFE 30	92.9	0.0	7.1
Cefalotina	CFL 30	85.7	0.0	14.3
Ciprofloxacina	CIP 5	42.9	50.0	7.1
Clindamicina	CLI 2	7.1	42.9	50.0
Cloranfenicol	CLO 30	100.0	0.0	0.0
Ceftriaxona	CRO 30	96.4	0.0	3.6
Ceftiofur	CTF 30	100.0	0.0	0.0
Doxiciclina	DOX 30	96.4	0.0	3.6
Enrofloxacin	ENS	96.4	3.6	0.0
Eritromicina	ERI 15	87.0	4.3	8.7
Gentamicina	GEN 10	96.4	3.6	0.0
Imipenem	IPM 10	100.0	0.0	0.0
Marbofloxacina	MBF 5	96.4	0.0	3.6
Moxifloxacina	MFX 5	100.0	0.0	0.0
Metronidazol	MTZ 50	33.3	5.6	61.1
Neomicina	NEO 30	100.0	0.0	0.0
Norfloxacina	NOR 10	100.0	0.0	0.0
Ofloxacina	OFX 5	67.9	28.6	3.6
Penicilina	PEN 10	0.0	92.9	7.1
Polimixina B	POL 300	100.0	0.0	0.0
Sulfadiazol (Sulfadiazina + Trimetoprim)	SDT 25	96.4	3.6	0.0
Sulfazotrim (Sulfametoxazol + Timetoprim)	SUT 25	96.4	0.0	3.6
Tetraciclina	TET 30	100.0	0.0	0.0
Tobramicina	TOB 10	100.0	0.0	0.0

Por outro lado, a maior parte dos isolados apresentou resistência a apenas 2 ou 3 antibióticos (Figura 2), com exceção dos isolados P3.11 e P8.1, com resistência a quatro antibióticos, e especialmente, G4.1 (gengivite) e P8.4 (periodontite) que exibiram resistência a 9 (32%) dos antibióticos avaliados. O perfil de resistência destes dois isolados, com resistência a todos os antibióticos β-lactâmicos avaliados, inclusive amoxicilina com ácido clavulânico, indica a presença de β-lactamase de efeito estendido (Dierikx et al., 2012, Zapun et al., 2016).

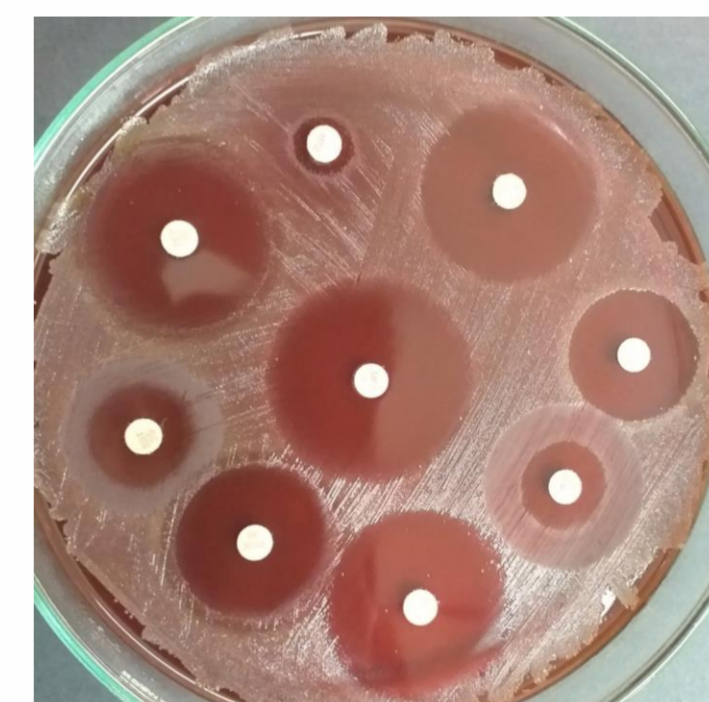
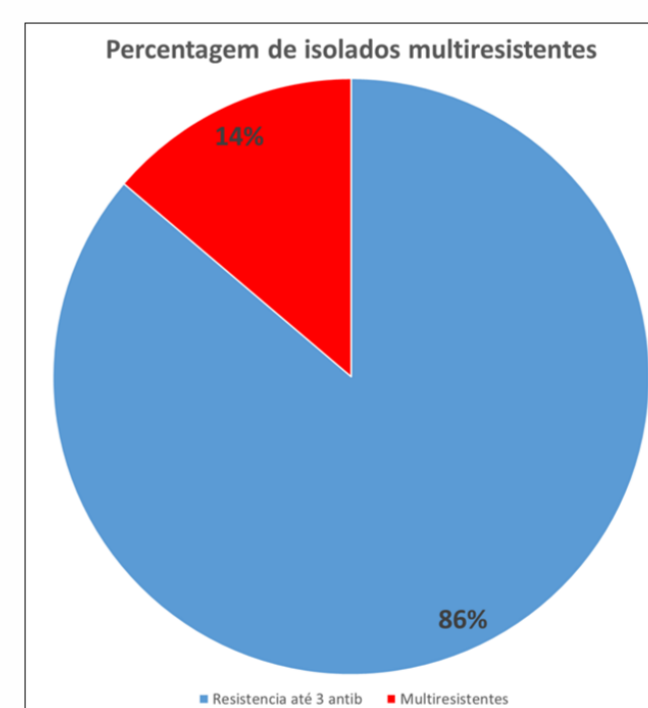


Figura 2- Resistência múltipla a antibióticos em *Neisseria* spp. oral de cães (A), resistência a antibióticos β-lactâmicos (G4.1).

Conclusões

Em conjunto os resultados indicam que as bactérias do gênero *Neisseria* associadas a doenças gengivais apresentam baixa resistência a antibióticos. Por outro lado, alguns isolados (7%) apresentam resistências múltiplas inclusive a antibióticos usados comumente como, amoxicilina + ácido clavulânico, ampicilina e cefalosporinas, podendo dificultar os processos terapêuticos.

Referências Bibliográficas

- CLSI (2015) - https://clsi.org/media/1632/m07a10_sample.pdf
 Dierikx, C.M., van Duijkeren, E., Schoormans, H.W., et al. (2012) Occurrence and characteristics of extended-spectrum-β-lactamase- and AmpC-producing clinical isolates derived from companion animals and horses *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 67: 1368–1374,
 Zapun, A., Morlot, C., Taha, M.K. (2016) Resistance to β-lactams in *Neisseria* spp due to chromosomally encoded Penicillin-binding proteins. *Antibiotics* 30:35.