



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Isolamento, identificação, perfil de suscetibilidade antimicrobiana e genes envolvidos na resistência de Enterococcus spp. obtidos de amostras fecais de lobos-marinhos (Arctocephalus spp.) encontrados no litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil
Autor	LEONARDO ALMANSA CARDOSO
Orientador	ANA PAULA GUEDES FRAZZON

O gênero *Enterococcus* spp. está presente na microbiota gastrointestinal dos seres humanos e outros animais, sendo frequentemente isolado de fontes ambientais e apresentando grande capacidade adaptativa aos mais diversos nichos. A prevalência de enterococos no ambiente tem sido bastante estudada e documentada, entretanto, na microbiota de animais marinhos não é muito noticiada, provavelmente, devido à dificuldade em se obter amostras deste ecossistema. O litoral do Rio Grande do Sul recebe algumas espécies de lobos-marinhos (*Arctocephalus* spp.) como visitantes sazonais que se aproximam da costa para descansar. Nesse sentido, o estudo teve como objetivo isolar micro-organismos pertencentes ao gênero *Enterococcus* spp., determinar a prevalência das espécies e o perfil de suscetibilidade antimicrobiana, bem como a presença de genes relacionados à resistência em amostras fecais de lobos-marinhos encontrados no litoral norte do Rio Grande do Sul. A seleção de *Enterococcus* spp. foi realizada a partir de dez amostras fecais de lobos-marinhos. Um grama de cada amostra foi inoculado em 10 mL de solução salina 0,85% (37°C, 24h, 100 rpm). Após, 1 mL foi transferido para 9 mL de meio de Caldo Azida Dextrose (37°C, 24h, 100 rpm). Posteriormente, diluições seriadas foram semeadas em Ágar Infusão de Cérebro e Coração acrescido de 6,5% de NaCl (37°C, 24h). A partir de cada amostra foram selecionadas 20 colônias aleatórias, totalizando 200 isolados. Critérios fenotípicos como coloração de Gram, produção de catalase, hidrólise da esculina e capacidade de crescimento a 45°C foram testados para identificar as cepas de enterococos. O DNA total dos isolados foi extraído por método envolvendo lise química e térmica. A confirmação do gênero foi realizada por PCR utilizando os oligonucleotídeos iniciadores para o gene *tuf*. A identificação das espécies foi realizada pela combinação de três técnicas: PCR Multiplex, empregando oligonucleotídeos iniciadores espécie-específicos para *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. casseliflavus* e *E. gallinarum*, testes bioquímicos convencionais e sequenciamento da região 16S rRNA. Os perfis de suscetibilidade dos isolados foram analisados através do método de disco-difusão em Ágar Müller-Hinton para os seguintes antibióticos (concentração em $\mu\text{g ml}^{-1}$): ampicilina (10), vancomicina (30), eritromicina (15), tetraciclina (30), ciprofloxacina (5), norfloxacina (10), nitrofurantoína (300), cloranfenicol (30), gentamicina (120) e estreptomina (300). Para os isolados com perfil de resistência à tetraciclina, testou-se a presença dos genes *tet(L)* e *tet(M)*, e para os resistentes à eritromicina, o gene *erm(B)*. Do total de 200 isolados, 160 foram classificados como sendo do gênero *Enterococcus*. A técnica do PCR Multiplex permitiu a identificação de 103 isolados. Os demais foram submetidos a provas bioquímicas convencionais e somente 8 foram identificados. Os 49 isolados restantes geraram perfis fenotípicos atípicos que foram submetidos ao sequenciamento da região 16S rRNA. Observou-se que a espécie *E. faecalis* (50,62%) foi a mais prevalente, seguida de *E. hirae* (34,37%), *E. casseliflavus* (11,87%), *E. gallinarum* (1,87%), *E. mundtii* (0,62%) e *E. faecium* (0,62%). Noventa e três (58,12%) isolados foram sensíveis aos antimicrobianos testados. As propriedades de resistência foram encontradas para eritromicina (21,25%), nitrofurantoína (15,62%), tetraciclina (6,25%), norfloxacina (3,12%) e ciprofloxacina (2,5%). Dentre os 10 *E. hirae* resistentes a tetraciclina, 3 apresentaram o gene *tet(M)* e nenhum o gene *tet(L)*. Dos 34 resistentes a eritromicina, apenas 2 apresentaram o gene *erm(B)*, ambos da espécie *E. casseliflavus*. Como conclusão, esta é a primeira vez que se identificam espécies de enterococos em fezes de lobo-marinho. A presença de cepas resistentes pode estar associada à contaminação do ambiente marinho por resíduos urbanos, chegando à cadeia alimentar, ou pela hipótese do resistoma ambiental. Mais estudos para determinar os mecanismos de resistência envolvidos são necessários para compreender a disseminação de micro-organismos no ambiente marinho.