

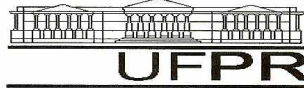
GISELE SPREA

**IDENTIFICAÇÃO DAS PRINCIPAIS BACTÉRIAS GRAM
NEGATIVAS PREDOMINANTES EM FEZES DIARRÉICAS DE
CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA E SUA
SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: José Francisco Ghignatti Warth

CURITIBA
2005



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação da Candidata ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária GISELE SPREA após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Dissertação, intitulada **“IDENTIFICAÇÃO DAS PRINCIPAIS BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS PREDOMINANTES EM FEZES DIARRÉICAS DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA E SUA SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS”** foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) A Candidata apresentou-se muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 – CEPE considerou a candidata Gisele Sprea concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária.

Curitiba, 18 de novembro de 2005.


Prof. Dr. José Francisco G. Warth
Presidente/Orientadora


Profa. Dra. Cristina Leise Monteiro
Membro


Prof. Dr. João Caetano Fortes
Membro

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, pois sua VONTADE é sábia e seu PODER fortalecedor....

Agradeço ao meu PAI, que mesmo parecendo estar distante, sempre esteve tão próximo acompanhando meus passos.....

Agradeço a minha MÃE, pois vê-la feliz hoje é meu maior presente....

Agradeço ao meu AVÔ, que sempre se orgulhou de ter uma neta veterinária....

Agradeço as minhas IRMÃS, que sempre estão torcendo pela irmã caçula...

Agradeço ao meu MARIDO, pelos momentos felizes que passamos juntos e por seu companheirismo....

Agradeço aos meus SOGROS, por serem especiais e me servirem de exemplo de vida...

Agradeço a algumas AMIGAS, por se preocuparem comigo e quererem me ver feliz...

Agradeço ao meu ORIENTADOR, que acreditou em minha capacidade e transmitiu seus conhecimentos.....

E por fim, agradeço aos ANIMAIS que com seus olhares de gratidão me dão força para exercer minha profissão com amor e prezar sempre pelo seu bem estar ... E em especial, àqueles que colaboraram com meu experimento...

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE GRÁFICOS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
SIGLAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. Gerais	16
2.2. Específico	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1. Aspectos Gerais das Enterites Virais	17
3.2. Parvovirose Canina	19
3.2.1. Patogênese e Alterações Clínicas da Parvovirose	21
3.3. Endotoxemias Causadas por Bactérias Gram Negativas	28
3.4. Enterobactérias da Microbiota Entérica Normal	33
3.5. Microbiota Intestinal Nativa X Patogênica	36
3.6. Tratamentos das Gastroenterites Infeciosas	40
3.7. Antibióticos e Agentes Antimicrobianos Sintéticos	43
3.8. Testes de Sensibilidade “ <i>In Vitro</i> ”	44
4. MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1. Local do Experimento	47
4.2. Pacientes Alvos do Experimento	47
4.3. Colheita das Amostras Fecais	47
4.4. Plaqueamento e Isolamento Bacteriano	48
4.5. Identificação Bioquímica Preliminar	48

4.6. Identificação Bioquímica Definitiva.....	49
4.7. Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos.....	51
4.8. Bacterioteca	53
4.9. Análise Estatística.....	53
5. RESULTADOS	54
5.1. Histórico de Vacinação e Hemograma Complementar	54
5.2. Identificação Bioquímica Preliminar	54
5.3. Identificação Bioquímica Definitiva.....	59
5.4. Teste de Sensibilidade frente a 20 Antimicrobianos	61
5.4.1. Sensibilidade Bacteriana Específica.....	61
5.4.2. Sensibilidade Bacteriana Geral	70
5.5. Análise Estatística Comparativa de Ação Antimicrobiana.....	73
6. DISCUSSÃO	76
6.1. Gêneros ou Espécies Bacterianas Isoladas nas Gastroenterites Infecciosas Caninas	76
6.2. Sensibilidade e Resistência aos Antimicrobianos	77
7. CONCLUSÃO.....	89
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
ANEXO 1 - COMPOSIÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA	97
ANEXO 2 - INTERPRETAÇÃO DAS PROVAS BIOQUÍMICAS.....	104

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -CARACTERÍSTICAS-CHAVE PARA IDENTIFICAÇÃO DOS MEMBROS DA FAMÍLIA <i>Enterobacteriaceae</i>	35
TABELA 2 -MECANISMOS E LOCAIS DE AÇÃO DE MICRORGANISMOS ENTEROPATOGÊNICOS:.....	37
TABELA 3 -TERAPIA DE PACIENTES COM ENTERITE VIRAL CANINA	42
TABELA 4 -PADRÃO INTERPRETATIVO DAS ZONAS DE INIBIÇÃO (em mm) DE ANTIBIOGRAMA, SEGUNDO A TÉCNICA DE BAUER (1966).	52
TABELA 5 -BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM ENTERITE VIRAL.....	59
TABELA 6 -RESULTADOS DAS 38 CEPAS DE <i>Escherichia coli</i> ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	61
TABELA 7 -RESULTADOS, EM VALOR NUMÉRICO E PORCENTAGEM, DAS 7 CEPAS DE <i>Proteus</i> sp. ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS	64
TABELA 8 -RESULTADOS, EM VALOR NUMÉRICO E PORCENTAGEM, DAS 4 CEPAS DE <i>Enterobacter</i> sp. ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	65
TABELA 9 - PORCENTAGEM DAS CEPAS DE <i>Klebsiella</i> sp. E <i>Morganella</i> sp. ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA FRENTE AOS ANTIMICROBIANOS	66
TABELA 10 -RESULTADOS DAS 2 CEPAS DE <i>Pseudomonas</i> sp. ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM	

GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	67
TABELA 11 -RESULTADOS OBTIDOS DAS 53 CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	70
TABELA 12 -RESULTADOS DO TESTE DO QUI-QUADRADO OU DO TESTE EXATO DE FISCHER COMPARANDO A EFICIÊNCIA DOS ANTIMICROBIANOS.....	73
TABELA 13 -INTERPRETAÇÃO DA PROVA DE OXIDAÇÃO-FERMENTAÇÃO	110

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 -PORCENTAGEM DE CEPAS ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA CLASSIFICADAS COMO FERMENTADORAS DE LACTOSE E NÃO FERMENTADORAS DE LACTOSE.....	55
GRÁFICO 2 -PORCENTAGEM DE CEPAS ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA CLASSIFICADAS COMO FERMENTADORAS DE GLICOSE (FAMÍLIA <i>Enterobacteriaceae</i>) E NÃO FERMENTADORAS DE GLICOSE (FAMILIA <i>Pseudomonadaceae</i>).....	57
GRÁFICO 3 -OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA.....	60
GRÁFICO 4 - RESULTADOS EM PORCENTAGEM DAS 38 CEPAS DE <i>Escherichia coli</i> ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS	62
GRÁFICO 5 -RESULTADOS EM PORCENTAGEM DAS 38 CEPAS DE <i>Escherichia coli</i> ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	63
GRÁFICO 6 -RESULTADOS EM PORCENTAGEM DAS 2 CEPAS DE <i>Pseudomonas</i> sp. ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	68
GRÁFICO 7 -RESULTADOS EM PORCENTAGEM DAS 2 CEPAS DE <i>Pseudomonas</i> sp. ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	69

GRÁFICO 8 -RESULTADOS OBTIDOS EM PORCENTAGEM DAS 53 CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	71
GRÁFICO 9 -RESULTADOS OBTIDOS EM PORCENTAGEM DAS 53 CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA NO TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.....	72
GRÁFICO 10 -RELAÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS MAIS EFICIENTES NO TESTE DE SENSIBILIDADE “ <i>in vitro</i> ” E QUE NÃO DIFEREM ENTRE SI ESTATISTICAMENTE.....	74
GRÁFICO 11 : RELAÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS MAIS EFICIENTES NO TESTE DE SENSIBILIDADE “ <i>IN VITRO</i> ” ADICIONANDO A CADA UM DELES OS PERCENTUAIS DE CEPAS INTERMEDIÁRIAS	75

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1**-PATOGÊNESE DA DIARRÉIA INFECCIOSA. (A) BACTÉRIAS ENTEROTOXIGÊNICAS NÃO INVASIVAS; (B) ATROFIA DAS VILOSIDADES DEVIDO INFECÇÃO VIRAL NO ÁPICE DAS VILOSIDADES (EX: CORONAVIROSE E ROTAVIROSE); (C) COLAPSO DA MUCOSA INTESTINAL POR INFECÇÃO VIRAL (EX: PARVOVÍRUS)..... 19
- FIGURA 2**-CÃO COM PARVOVIROSE APRESENTANDO HIPEREMIA E CONGESTÃO EM JEJUNO, DESCOLORAÇÃO E RUGOSIDADE NA SEROSA DO RESTANTE DOS SEGMENTOS INTESTINAIS. 24
- FIGURA 3**-INTESTINO DELGADO DE UM CÃO COM PARVOVIROSE APRESENTANDO ÁREAS DE COLORAÇÃO AVERMELHADA MAIS INTENSA SUGESTIVAS DE PRESENÇA DE HEMORRAGIA NO LÚMEM INTESTINAL. 24
- FIGURA 4**-MUCOSA INTESTINAL DE UM CÃO COM PARVOVIROSE APRESENTANDO ESTRIAÇÕES TRANSVERSAIS E LONGITUDINAIS. 25
- FIGURA 5**-CORTE HISTOLÓGICO DO DUODENO DE UM CÃO COM GASTROENTERITE INFECCIOSA (EM AUMENTO DE 40X). (A) MUCOSA, (B) SUBMUCOSA, (C) SEROSA E (D) INFILTRADO INFLAMATÓRIO MONONUCLEAR..... 26
- FIGURA 6**-CORTE HISTOLÓGICO DO DUODENO DE UM CÃO COM GASTROENTERITE INFECCIOSA (EM AUMENTO DE 100X). (A) VILOSIDADES INTESTINAIS E (B) INFILTRADO INFLAMATÓRIO MONONUCLEAR..... 26
- FIGURA 7**-CORTE HISTOLÓGICO DO DUODENO DE UM CÃO COM GASTROENTERITE INFECCIOSA (EM AUMENTO DE 200X). (A) NECROSE DE CÉLULAS EPITELIAIS COM ATROFIA DAS VILOSIDADES INTESTINAIS. 27

FIGURA 8 -ESQUEMA ADAPTADO PARA ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MEMBROS DA FAMÍLIA <i>Enterobacteriaceae</i>	50
FIGURA 9 -CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA DAS COLÔNIAS BACTERIANAS FERMENTADORAS DE LACTOSE (LACTOSE POSITIVA)	56
FIGURA 10 -CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA DAS COLÔNIAS BACTERIANAS NÃO FERMENTADORAS DE LACTOSE (LACTOSE NEGATIVA).....	56
FIGURA 11 -CULTURAS BACTERIANAS EM ÁGAR TSI, (A) E (C) BACTÉRIAS DA FAMÍLIA <i>Enterobacteriaceae</i> ; (B) BACTÉRIAS DA FAMÍLIA <i>Pseudomonadaceaea</i>	58
FIGURA 12 -(A)MEIO DE ÁGAR TSI ESTÉRIL E (B) CULTIVO DE BACTÉRIAS DA FAMÍLIA <i>Enterobacteriaceae</i>	105
FIGURA 13 -(A) PROVA DE INDOL POSITIVA E (B) PROVA DO INDOL NEGATIVA.....	106
FIGURA 14 -(A) REAÇÃO DO CITRATO POSITIVA E (B) REAÇÃO DO CITRATO NEGATIVA	108
FIGURA 15 -REAÇÕES BIOQUÍMICAS IDENTIFICANDO UMA CEPA DE <i>Escherichia coli</i> ISOLADA DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA	109
FIGURA 16 -REAÇÕES BIOQUÍMICAS IDENTIFICANDO UMA CEPA DE <i>Proteus</i> sp. SOLADA DAS FEZES DE CÃES COM GASTROENTERITE INFECCIOSA	109
FIGURA 17 : TUBOS DE HUGH E LEIFSON IDENTIFICANDO MICROORGANISMO COM METABOLISMO OXIDATIVO . (A) MEIO ABERTO COM REAÇÃO ÁCIDA (AMARELA) E (B) MEIO FECHADO COM REAÇÃO ALCALINA (VERDE).....	110
FIGURA 18 : COLÔNIA DE <i>Pseudomonas</i> sp. ISOLADA DE FEZES CANINAS APRESENTANDO REAÇÃO DE CITOCROMO OXIDASE POSITIVA.....	111

SIGLAS

PEN = Penicilina
AMP = Ampicilina
AMO = Amoxicilina
AMC = Amoxicilina com
Ácido Clavulânico
CFX = Cefalexina
CFL = Cefalotina
CRO = Ceftriaxona
CEF = Cefadroxil
IMP = Imipeném
LIN = Lincomicina

SUT = Sulfa-Trimetropina
AMI = Amicacina
NEO = Neomicina
GEN = Gentamicina
ERI = Eritromicina
TET = Tetraciclina
DOX = Doxiciclina
CIP = Ciprofloxacina
NOR = Norfloxacina
ENO = Enrofloxacina

g = gramas
mg = miligramas
Kg = quilogramas
 μ g = microgramas
ml = mililitros
 μ l = microlitros
mcg = microgramas
cm = centímetros
mm = milímetros
% = porcentagem
°C = graus celsius
IM = intramuscular
SC = subcutâneo
IV = intravenoso

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivos identificar as bactérias Gram negativas predominantes em fezes diarréicas de cães com gastroenterite infecciosa, bem como verificar as sensibilidades "in vitro" das cepas frente a vinte antimicrobianos de uso clínico. Foram realizados 50 exames bacteriológicos em igual número de culturas fecais, sendo obtidas 48 cepas da Família *Enterobacteriaceae* e 2 da Família *Pseudomonadaceae*. Observou-se predominância de *Escherichia coli* totalizando 36 (72%) cepas, seguida de 4 (8%) cepas de *Proteus* sp., 3 (6%) de *Enterobacter* sp., uma (2%) de *Klebsiella* sp. e também uma (2%) de *Morganella* sp. Três culturas apresentaram-se mistas. Os antimicrobianos que apresentaram melhores resultados frente aos microorganismos isolados foram: Imipeném (94%), Ciprofloxacina (92%), Norfloxacina (88%), Ceftriaxona (85%), Enrofloxacina (83%) e a associação Amoxicilina com Ácido Clavulânico (77%). Observou-se em 100% das cepas ineficácia da Penicilina, Eritromicina e Lincomicina.

Palavras Chave: bactérias; gastroenterite infecciosa; antimicrobianos.

ABSTRACT

This work focus was to identify Gram negatives bacterias prevailing at diarrheic feces of dogs with infectious gastroenteritis, as well of checking isolated strains sensibility “*in vitro*” against twenty clinical use antimicrobial. It was accomplished fifty bacteriological exams to the same amount of fecal culture and gotten forty-eight cepas of *Enterobacteriaceae* Family and two of *Pseudomonadaceae* Family. It was observed a predominance of *Escherichia coli* bringing to an amount of 36 (72%) strains, followed by 4 (8%) *Proteus* sp. strains, 3 (6%) *Enterobacter* sp., 1 (2%) of *Klebsiella* sp. and also 1 (2%) of *Morganella* sp. The 3 cultures presented mixed. The antimicrobial that presented the best results with the isolated microorganisms was: Imipenen (94%), Ciprofloxacin (92%), Norfloxacin (88%), Ceftriaxon (85%), Enrofloxacin (83%) and the association of Amoxicillin with Clavulanic Acid (77%). And there were antimicrobial with 100% of inefficacy such as Penicilin, Erythromycin and Lincomycin.

Key words: bacterias; infectious gastroenteritis; antimicrobial.