

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE *Klebsiella pneumoniae* EM VEADO CATINGUEIRO (*Mazama spp*) - RELATO DE CASO

Mateus MatiuZZi da Costa¹, Márcia Medeiros de Araújo², Rodolfo de Moraes Peixoto³,
Cristina da Costa Krewer⁴, Franklin Riet-Correa⁵, Agueda Castagna de Vargas⁶.

RESUMO

Klebsiella pneumoniae é uma enterobactéria associada a diversas infecções nos seres humanos e animais. A patogenia ocasionada por esta bactéria é importante nos animais silvestres onde atua como um agente oportunista. Este relato descreve o isolamento de *K. pneumoniae* a partir de um filhote de veado catingueiro, macho, mantido confinado no município de Petrolina-PE. O animal apresentou morte súbita antecedida por sinais nervosos de pedalagem e opistótono. Após a necropsia, o cultivo bacteriano foi realizado a partir de diversos fragmentos de fígado, intestinos, baço e pulmões. Realizou-se o teste de sensibilidade aos antimicrobianos das bactérias isoladas. Também removeu-se fragmentos dos órgãos para análise histopatológica. *K. pneumoniae* obteve-se em cultivos puros do fígado e pulmões. Estes isolados foram sensíveis a norfloxacin, tetraciclina, colistina, estreptomicina, neomicina, gentamicina, enrofloxacin, azitromicina, sulfazotrim e resistentes a ampicilina, penicilina, rifampicina e eritromicina. A análise histopatológica revelou congestão difusa em diversos órgãos. Relatos como estes são importantes no intuito de alertar profissionais da área a respeito da etiologia e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de *K. pneumoniae* em animais silvestres.

Palavras-chave: *Klebsiella pneumoniae*, septicemia, veado catingueiro.

INTRODUÇÃO

O veado catingueiro (*Mazama spp*) é uma espécie de grande distribuição territorial, ocupando desde o norte até o sul do país. É classificado como um animal de pequeno porte com peso vivo entre 17 e 23 Kg. Este cervídeo habita florestas se alimentando principalmente de frutos, flores, fungos, gramíneas e leguminosas (BRENDT, 2005).

O confinamento expõe os animais ao estresse, o qual é conhecido como um importante agente imunossupressor, que pode estar associado à falhas nutricionais. Sob condições de cativeiro muitos problemas associados à nutrição dos pequenos ruminantes podem ser observados, podendo ocorrer até a morte (BRENDT, 2005). O estresse afeta diretamente o sistema imunológico, reduzindo o número e função dos leucócitos, bem como os níveis de anticorpos protetores (TIZARD, 2000). Diversos grupos bacterianos são tidos como oportunistas e ocasionam enfermidades, quando de uma situação desfavorável ao hospedeiro (QUINN et al., 2005). Os animais jovens são vulneráveis a estas infecções devido a sua menor competência imunológica (RENGIFO et al., 2006).

Klebsiella pneumoniae são bacilos gram negativos, anaeróbios facultativos e agrupados dentro da família *Enterobacteriaceae* (QUINN et al., 2005). O gênero *Klebsiella spp.* alberga cinco espécies sendo estas *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. terrestrigena*, *K. ornithinolytica* e *K. planticola*. Esta classificação é baseada na taxonomia numérica envolvendo testes bioquímicos, fenotípicos e moleculares (DRACOUNT et al., 2001). *K.*

¹ Médico Veterinário. Doutor. Professor. Fundação Universidade do Vale do São Francisco (UNIVASF), Campus da Fazenda Experimental, Rua da Simpatia, 179, Centro, Petrolina-Pe, CEP 56300-000. E-mail: mateus.costa@univasf.edu.br.

² Médica Veterinária. Doutora. Professora. UNIVASF.

³ Médico Veterinário. Pós-graduando. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UNIVASF.

⁴ Farmacêutica. Mestre. Professora. UNIVASF.

⁵ Médico Veterinário. Doutor. Professor. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, UFCG.

⁶ Médica Veterinária. Doutora. Professora. Centro de Ciências Rurais, UFSM.

pneumoniae é considerada uma importante causa de infecções hospitalares nos seres humanos onde é responsável por até 86% dos casos (HANSEN et al., 2004). Nos animais, esta bactéria tem sido associada a diversos quadros clínicos, como mastites, metrites, pneumonias e septicemias (QUINN et al., 2005; RENGIFO et al., 2006). Infecções em espécies silvestres foram relatadas em alces, leões marinhos, gatos do mato (ENURAH et al., 1988, JENKIS et al., 2001; CASTINEL, et al., 2007) e sagüis (PISHARATH et al., 2005). O presente estudo objetivou descrever o isolamento e o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de *K. pneumoniae* isolada do fígado e pulmões de veado catingueiro (*Mazama* spp).

RELATO DE CASO

O animal, macho, apresentava-se confinado e com suspeita de intoxicação por organofosforado. O histórico representava que o mesmo mostrava sinais nervosos, como opistótono, pedalagem e nistagmo, sofrendo morte súbita. Após a necropsia acolheu-se asepticamente fragmentos de pulmões, fígado, intestinos e baço de veado catingueiro (*Mazama* spp). Estes foram resfriados e remetidos ao laboratório de microbiologia do campus da fazenda experimental da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina-PE.

O cultivo bacteriano realizou-se em ágar sangue ovino (5%) e ágar MacConkey. Após a semeadura, as placas foram incubadas por 48h a 37°C. Identificou-se as colônias isoladas de acordo com suas características morfológicas e bioquímicas. Os testes bioquímicos utilizados para confirmação do gênero e espécie bacteriano foram catalase, oxidase, glicose oxidativa:fermentativa, ágar TSI, meio de SIM, fermentação da glicose, lactose, voges-proskauer, vermelho de metila, citrato, crescimento a 10°C de acordo com o descrito por Hansen et al. (2004). Submeteu-se os isolados identificados ao teste de sensibilidade em disco Kirby-Bauer modificado (BAUER et al., 1966). Para tal, colônias eram repicadas em caldo MH e incubadas por 8h a 37°C. Após este período, as mesmas foram espalhadas em placas contendo ágar Mueller Hinton. No teste, avaliou-se as seguintes drogas: ampicilina (10µg), penicilina (10µg), rifampicina (30µg), eritromicina (15µg), sulfazotrim (25µg), azitromicina (15µg), enrofloxacina (5µg), gentamicina (30µg), neomicina (30µg), estreptomicina (10µg), colistina (25µg), tetraciclina (30µg) e norfloxacina (10µg). Utilizou-se como controle de qualidade para os testes de sensibilidade aos antimicrobianos a cepa padrão ATCC 13883 de *K. pneumoniae*.

Amostras dos órgãos mantidas em formol tamponado a 10% foram remetidas ao laboratório de patologia da Universidade Federal da Paraíba, onde as processou e submeteu-as a análise histopatológica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das amostras de fígado e pulmões submetidas ao cultivo bacteriano foram isoladas colônias mucóides que na coloração de Gram, apresentaram-se como bacilos gram negativos. Estes microrganismos eram classificados como *K. pneumoniae*, conforme os padrões bioquímicos descritos por (HANSEN et al., 2004). Obteve-se as colônias em cultivo puro, o que é sugestivo de septicemia. O mesmo padrão de isolamento foi descrito por Jenkis et al. (2001) em alces.

As enterobactérias possuem uma característica de resistência aos antimicrobianos, a qual pode estar relacionada em parte a grande troca de material genético, que ocorre entre as bactérias deste grupo (SHERLEY et al., 2004). No presente estudo, o isolado de *K. pneumoniae* apresentou sensibilidade a norfloxacina, tetraciclina, colistina, estreptomicina, neomicina, gentamicina, enrofloxacina, azitromicina, sulfazotrim e resistência a ampicilina, penicilina, rifampicina e eritromicina. Padrão semelhante foi descrito por Enurah et al. (1988) que encontraram sensibilidades a estreptomicina e cloranfenicol e resistências a penicilina e eritromicina. A resistência a penicilina não foi observada em isolados de leões marinhos (CASTINEL et al., 2007). A resistência da *Klebsiella* spp. aos antimicrobianos β -lactâmicos é bem conhecida e normalmente associada a ausência de sítios alvos para atuação das drogas (LIU et al., 2007).

A análise histopatológica revelou a presença de congestão, necrose e hemorragias em diferentes órgãos. Estes achados são compatíveis com os descritos na literatura para a septicemia provocada por *K. pneumoniae* (JENKIS et al., 2001). Entretanto, a consolidação purulenta muitas vezes descrita nas infecções por *K. pneumoniae* (ENURAH et al., 1988, CASTINEL et al., 2007) não foi observada. Contudo, Pisharath et al. (2005) ao avaliarem a septicemia e peritonite por *K. pneumoniae* em sagüis (*Callithrix jacchus*) verificaram que a doença pode muitas vezes ocorrer de forma super aguda com mínima reação inflamatória, sendo os achados purulentos associados a forma crônica da doença.

A *K. pneumoniae* é considerada um patógeno oportunista ao homem e animais onde ocasiona diversas enfermidades (KO et al., 2005).

Nos animais silvestres a *K. pneumoniae* já foi relacionada à pneumonia em gatos do mato (*Civettis civetta*) na Nigéria (ENURAH et al., 1988), surtos de mortalidade em filhotes de leão marinho na Nova Zelândia (CASTINEL et al., 2007) e em um caso de septicemia secundária e erliquiose em filhote de alce (JENKIS et al., 2001). Um aspecto importante a se ressaltar é que em todos os relatos de infecção por *K. pneumoniae* em animais silvestres disponíveis na literatura os filhotes foram acometidos, de maneira semelhante ao descrito na presente nota. Os animais jovens são muito sensíveis às infecções bacterianas oportunistas, em particular aqueles que tiveram uma fraca ingestão de colostro (TIZARD, 2000). Além disto, falhas nos sistema imunológico são comuns em cervídeos cativos, sendo estas associadas a pouca ingestão de micronutrientes como cobre e zinco (BARTOSKEWITZ et al., 2006).

Relatos como estes são importantes no intuito de alertar profissionais da área a respeito da etiologia e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de *K. pneumoniae* em animais silvestres.

Isolation and characterization of *Klebsiella pneumoniae* from catingueiro deer (*Mazama spp*) - case reports

ABSTRACT

K. pneumoniae is an enterobacteria associated with several infections in man and animals. Opportunistic infectious diseases caused by this microorganism in wild animal are very important. This report stresses the *K. pneumoniae* isolation and characterization from catingueiro deer, male, kept in Petrolina county, Pernambuco state. The animal has a sudden death presenting neurological signs like opisthotonos. After the necropsy the bacterial isolation was done from organs fragments as liver, gut, spleen and lung. From isolated bacteria the antimicrobial sensitivity test was performed. Samples of the organs were submitted to histopathologic analysis. *K. pneumoniae* was isolated in a pure culture from liver and lung. This microorganism was sensible to norfloxacin, tetracycline, colistin, streptomycin, neomycin, gentamicin, enrofloxacin, azitromicin, trimethoprim:sulfamethoxazole and resistant to ampicillin, penicillin, rifampicin and erithromycin. The histopathology analysis showed congestion necrosis and hemorrhage in several organs.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, septicemia, catingueiro deer.

REFERÊNCIAS

BARTOSKEWITZ, M.L.; HEWITT, D.G.; LAURENZ, J.C.; PITTS, J.S.; BRYANT, F.C. Effect of dietary copper and zinc concentrations on white tailed deer antler growth, body size, and immune system function. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 73, n. 1-3, p. 87-94, 2006.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.N.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, Baltimore, v. 45, n. 4, p. 493-496, April 1966.

BRENDT, A. **Nutrição e ecologia nutricional de cervídeos brasileiros em cativeiro e no parque nacional das emas – Goiás**. 2005. 75p. Tese (Doutorado em ecologia dos agrossistemas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

CASTINEL, A.; GRINBERG, A.; PATTISON, R.; DUIGNAN, P.; POMROY, B.; ROGERS, L.; WILKINSON, I. Characterization of *Klebsiella pneumoniae* isolates from New Zealand sea lion (*Phocarctos hookeri*) pups during and after the epidemics on Enderby Island, Auckland Island. **Veterinary Microbiology**, Malden, v. 122, n. 1-2, p. 178-184, May 2007.

DRACOUNT, M.; BOLLET, C.; CARTA, A.; ROUSSELIER, P. Phylogenetic of *Klebsiella* species delineate *Klebsiella* and *Raoultella* gen. nov., with description of *Raoultella ornithinolytica* comb. nov., *Raoultella terrigena* comb. nov. and *Raoultella planticola* comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, p. 925-932, 2001.

ENURAH, L.U.; ADENIYI, K.O.; OCHOLI, R.A.; SPENCER, T.H.; BADUNG, J.D. *Klebsiella pneumoniae* as a cause of pneumonia and septicemia in a civet kitten (*Civettictis civetta*) in the Jos zoo, Nigeria. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 24, n. 3, p. 585-586, 1988.

HANSEN, D.S.; AUCKEN, H.M.; ABIOLA, T.; PODSCHUN, R. Recommended test panel for differentiation of *Klebsiella* species on the basis of a trilateral interlaboratory evaluation of 18 biochemical tests. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 42, n. 8, p. 3665-3669, August 2004.

JENKIS, A.; HANDELAND, K.; STUEN, S.; SCHOULS, L.; VAN DE POL, I.; MEEN, R.T.; KRISTIANSEN, B.E. Erlichiosis in a moose calf in Norway. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 37, n. 1, p. 201-203, 2001.

KO, W.C.; CHIANG, S.R.; YAN, J.J.; CHUANG, Y.C. Comparative pathogenicity of bacteraemic isolates of *Aeromonas hydrophilla* and *Klebsiella pneumoniae*. **Clinical Microbiology and Infection**, Oxford, v. 11, n. 7, p. 553-558, 2005.

LIU, S.Y.; SU, L.H.; YEH, Y.L.; CHU, C.; LAI, J.C.; CHIU, C.H. Characterization of plasmids encoding CTX-M-3 extended-spectrum β -lactamase from *Enterobacteriaceae* isolated at a university hospital in Taiwan. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 29, n. 4, p. 440-445, April 2007.

PISHARATH, H.R.; COOPER, T.K.; BRICE, A.K.; CIANCIOLO, R.; PISTORIO, A.L.; WACHTMAN, L.M.; MANKOWSKI, J.L.; NEWCOMER, C. Septicemia and peritonitis in a colony of common marmosets (*Callithrix jacchus*) secondary to *Klebsiella pneumoniae* infection. **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 44, n. 1, p. 35-37, January 2005.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. 1. ed. São Paulo: Artmed, 2005. 512p.

RENGIFO, S.A.; SILVA, R.A.; PEREIRA, I.A.; ZEGARRA, J.Q.; SOUZA, M.M.; BOTTEON, R.C.C.M. Isolamento de agentes microbianos a partir de amostras de sangue e umbigo de bezerros mestiços neonatos. **Brazilian Journal of Veterinary Research in Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 442-447, October 2006.

SHERLEY, M.; GORDON, D.M.; COLLIGNON, P.J. Evolution of multi-resistance plasmids in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. **Microbiology**, Reading, v.150, n. 5, p.1539-1546, 2004.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária**. 7. ed. São Paulo: Roca, 2000. 544p.