



Resistência antimicrobiana na produção de doses de sêmen suíno

Rudolf Großfeld, Minitüb GmbH

O que é a resistência antimicrobiana?

Resistência antimicrobiana (RAM) é a capacidade de uma cepa bacteriana de sobreviver na presença de um determinado antibiótico. Na medicina, os antibióticos são usados para tratar infecções bacterianas, enquanto na produção de doses de sêmen suíno, os antibióticos são acrescentados ao diluente para evitar o crescimento bacteriano no sêmen diluído e impedir o comprometimento da qualidade seminal e a transmissão de doenças.

A Organização Mundial da Saúde declara que as RAMs aos antibióticos são atualmente uma das maiores ameaças à saúde global, à segurança alimentar e ao desenvolvimento¹.

Como se desenvolve uma RAM?

Quando as bactérias são expostas constantemente a antibióticos, elas desenvolvem mecanismos de resistência por mutação e seleção em um processo evolutivo. Na produção de sêmen, esse pode ser o caso no galpão e no laboratório, onde às vezes se observa o uso descuidado de antibióticos. Se esse for o caso, os microorganismos estão em contato frequente com antibióticos e, para sobreviver, desenvolvem estratégias de defesa contra esses antibióticos, o que leva às RAMs (Figura 1).

Uma vez que as bactérias tenham desenvolvido mecanismos de resistência contra um antibiótico, elas podem continuar a se multiplicar na presença desse antibiótico. Os microorganismos resistentes também podem compartilhar seus mecanismos de defesa com outros microorganismos, mesmo entre espécies, resultando em uma disseminação amplificada de múltiplas RAMs contra uma variedade de antibióticos². Quando os microorganismos adquirem a combinação certa de mecanismos de resistência, eles se tornam resistentes a várias classes de antibióticos, resultando em infecções intratáveis ou contaminação incontrolável de doses de sêmen.

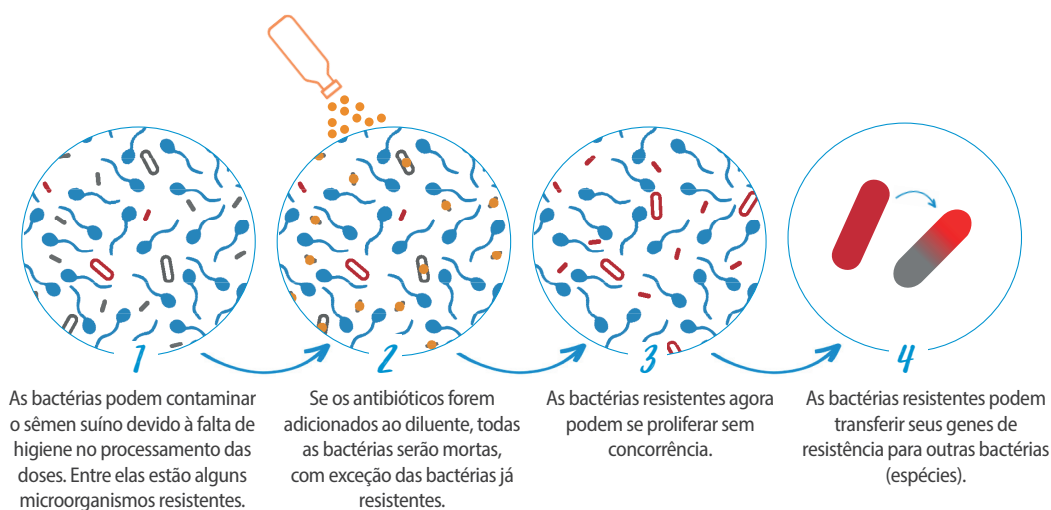
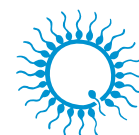


Figura 1: Desenvolvimento de resistência antimicrobiana (RAM) durante a preservação do sêmen suíno

A *Serratia marcescens* está entre as bactérias que frequentemente causa problemas graves na produção de sêmen suíno se desenvolverem uma ou várias RAM. Essas bactérias gram-negativas pertencem à família Yersiniaceae e são anaeróbios facultativos. Elas são encontradas com frequência no trato urinário e no prepúcio dos animais e, principalmente, em locais úmidos do galpão de alojamento. A higiene inadequada durante a coleta de sêmen permite que a *Serratia* contamine o ejaculado e, conseqüentemente, o laboratório, onde o microorganismo encontra o diluente de sêmen que contém antibióticos. O contato frequente permite que a *Serratia* desenvolva mecanismos de defesa contra os antibióticos usados no laboratório e, conseqüentemente, a *Serratia* crescerá no sêmen diluído, mesmo com a presença de antibióticos. Se uma contaminação por *Serratia* não puder ser controlada por antibióticos, as células spermáticas serão danificadas após 48 a 72 horas, a ponto de a fertilidade ser fortemente prejudicada.

Esse é um exemplo simplificado de como as bactérias resistentes podem se desenvolver e contaminar as doses de sêmen, mas, infelizmente, isso pode acontecer a qualquer momento em centrais com gerenciamento inadequado da higiene e manuseio descuidado de antibióticos.



Como identificar contaminações bacterianas em doses de sêmen?

A contaminação bacteriana devido a RAMs na produção de sêmen suíno, é geralmente observada pela primeira vez quando amostras de sêmen diluído apresentam motilidade espermática reduzida e/ou aglutinações. Dependendo do grau de contaminação e da cepa bacteriana, a motilidade das amostras de controle contaminadas pode diminuir lentamente durante o armazenamento ou cair drasticamente em apenas 24 horas. O motivo é o crescimento exponencial de bactérias resistentes, pois os antibióticos não conseguem mais controlar o crescimento bacteriano.

As aglutinações de espermatozoides também podem ser causadas por contaminação bacteriana. A Figura 2 mostra exemplos de amostras de sêmen com aglutinações, que prejudicam gravemente a qualidade espermática.

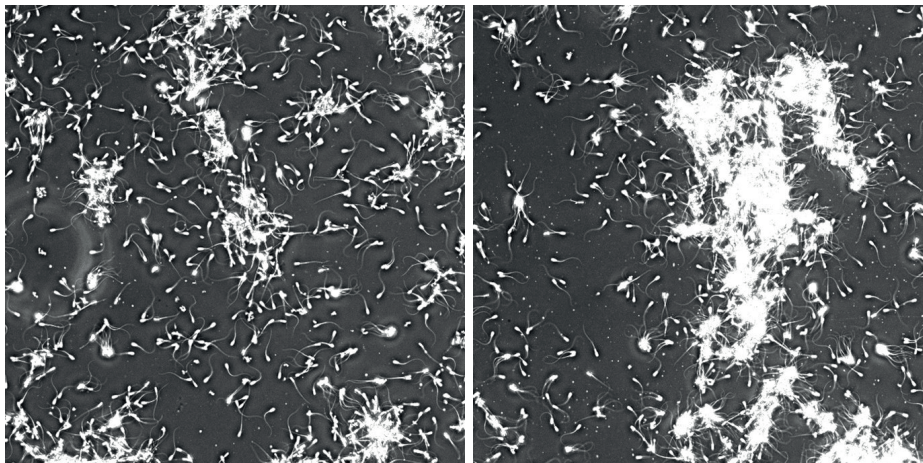


Figura 2: Duas amostras de sêmen suíno com aglutinação causada por contaminação bacteriana grave em aumento de 100X.

Se nenhuma ação imediata for tomada, a contaminação bacteriana reduzirá significativamente a quantidade de células espermáticas férteis em uma dose de sêmen e pode até, dependendo do tipo de bactéria, causar infecções nas porcas inseminadas.

Como prevenir e evitar contaminações de doses de sêmen com bactérias resistentes?

Quando uma central se depara com a contaminação bacteriana de doses de sêmen devido a RAMs, é necessário agir imediatamente para poder continuar produzindo doses. Além disso, é preciso tomar medidas duradouras para resolver o problema a longo prazo e evitar o desenvolvimento de mais RAMs, o que tornaria impossível controlar a contaminação bacteriana em algum momento.

Ação imediata para evitar a contaminação bacteriana das doses de sêmen

Geralmente isso requer, primeiramente, a adição de um antibiótico ao diluente que ainda possa controlar as bactérias existentes. Esse antibiótico deve ser identificado com a ajuda de um antibiograma, em que a cepa bacteriana é isolada e testada quanto à sua resistência e sensibilidade a diferentes antibióticos em um laboratório de microbiologia especializado. O aditivo „emergencial“ deve ser um antibiótico que ainda seja eficaz contra a cepa existente e que não seja tóxico para os espermatozoides. Obviamente, isso exige que os antibióticos presentes no diluente sejam divulgados pelo fornecedor e conhecidos pelo usuário. Com exceção da Minitube, nem todos os fornecedores de diluente de sêmen suíno fornecem essas informações, o que é crucial para tomar medidas imediatas e eficazes contra bactérias resistentes.

Essa medida emergencial é uma forma rápida e eficaz para manter a produção de sêmen, mas deve ser vista apenas como uma solução temporária. A causa e a fonte reais das bactérias resistentes devem ser identificadas e eliminadas. A etapa a seguir é de extrema importância e inevitável:

Identificar a fonte da contaminação e erradicá-la!

As fontes típicas de contaminação bacteriana em uma central de sêmen são os pontos do laboratório que são difíceis de limpar e que proporcionam um ambiente quente e úmido, adequado para o crescimento bacteriano. Esses pontos e itens críticos incluem:

- Sistema de distribuição pneumática
- Banhos-maria, pias e drenos
- Sistema de tratamento de água e tubulações
- Tanques de diluente, especialmente sua tampa e orifícios
- Mangueiras
- Corantes de sêmen
- Qualquer item em contato com o sêmen diluído

Depois de uma limpeza geral do laboratório usando um desinfetante eficaz com foco especial nas áreas de preocupação mencionadas acima, é aconselhável fazer swabs de vários pontos e verificar se ainda há crescimento bacteriano. Isso pode ser feito pela equipe do laboratório com kits que permitam a cultura bacteriológica, por exemplo, o EasyCult. Se um ou mais desses locais apresentarem contaminação bacteriana, é fundamental que se realize uma segunda limpeza completa até que a fonte seja completamente erradicada.

A medida mais eficaz para prevenir e evitar a presença de bactérias contaminantes resistentes é a aplicação rigorosa de protocolos de higiene e saneamento^{3,4}.

Esses protocolos incluem:

- Cuidados com os animais (encurtamento dos pelos prepuciais, limpeza geral das baias, gaiolas e animais)
- Coleta higiênica de sêmen usando o método de luvas triplas e um sistema de coleta automatizado (BoarMatic) com sistema fechado (cérvis artificial)
- Evitar a coleta de líquido pré-seminal, especialmente o fluido prepucial
- Separação rigorosa entre o galpão e o laboratório (equipe, material, ar)
- Higiene geral do laboratório e pessoal, desinfecção frequente das superfícies do laboratório e das mãos
- Instruções rigorosas para a desinfecção de todos os objetos que entram em contato com o diluente contendo antibiótico (por exemplo, pesos de inox e mangueiras, tanques de diluentes, ou vidrarias)
- Instruções apropriadas para o descarte de líquidos contendo antibióticos
- Treinamento regular da equipe do laboratório em higiene e limpeza
- Monitoramento e auditoria regulares dos processos
- Controles regulares de contaminação das superfícies do laboratório e das doses de sêmen
- Limpeza adequada da área de coleta de sêmen

Perspectivas futuras

A higiene na produção de doses de sêmen suíno é certamente a medida mais importante para evitar o desenvolvimento de bactérias com RAMs. Algumas outras possibilidades foram desenvolvidas para evitar a RAM, limitando ou até mesmo evitando o contato entre as bactérias e os antibióticos.

Dosagem precisa de antibióticos (ADA - accurate dosage of antibiotics)

A ADA é um novo protocolo no processo de diluição de ejaculados, no qual a adição de antibióticos é realizada separadamente à diluição do ejaculado⁵. Nos protocolos de diluição convencionais, o antibiótico já está presente no diluente e, portanto, a concentração de antibiótico é reduzida quando o diluente é adicionado ao ejaculado. Por outro lado, adicionar os antibióticos separadamente na forma de um concentrado a um diluente sem antibiótico, permite a dosagem precisa em cada lote de sêmen diluído, fornecendo quantidades precisamente controladas de antibióticos no produto final. Para garantir a preparação do concentrado de antibióticos sem dispersão do pó, foi desenvolvida uma embalagem solúvel em água, que protege o ambiente do laboratório e a equipe à exposição constante a antibióticos e, portanto, reduz o risco de desenvolvimento de RAMs. A ADA também permite maior flexibilidade e especificidade na adição de antibióticos e elimina a necessidade de descartar o diluente restante com antibióticos no final de um dia de produção.

Armazenamento de sêmen suíno a 5°C em diluentes especializados

Desenvolvimentos recentes de diluentes permitem o armazenamento de doses de sêmen suíno a +5°C⁶. A essa temperatura, há apenas uma proliferação muito limitada de bactérias, o que permite o armazenamento de sêmen totalmente livre de antibióticos e, portanto, impede completamente o desenvolvimento de RAMs. No caso dos diluentes Androstar Plus e Androstar Premium da Minitube, uma substância bactericida orgânica (OBS) também está incluída no diluente⁷. A OBS apresenta ação bactericida, mas não é considerada um antibiótico, portanto, não é possível desenvolver RAM contra a OBS.

Conclusão

O estabelecimento e o desenvolvimento contínuo de um conceito de higiene consistente e eficaz, desde o alojamento dos animais, coleta e processamento de sêmen até a higiene geral do laboratório, é um pré-requisito para a operação duradoura e eficaz de uma central de sêmen suíno. Um conceito de higiene e a aplicação de protocolos de processamento modernos evitam o aparecimento de RAMs, o que é altamente desejável na produção de doses de sêmen suíno, bem como para a saúde global, segurança alimentar e o desenvolvimento futuro.

Referências

1. World health Organization (WHO). Antimicrobial resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (2021).
2. CDC - Center for Disease Control and Prevention. How Antimicrobial Resistance Happens. <https://www.cdc.gov/drugresistance/about/how-resistance-happens.html> (2022).
3. Althouse, G. C. & Lu, K. G. Bacteriospermia in extended porcine semen. *Theriogenology* 63, 573–84 (2005).
4. Schulze, M., Ammon, C., Rüdiger, K., Jung, M. & Grobbel, M. Analysis of hygienic critical control points in boar semen production. *Theriogenology* 83, 430–437 (2015).
5. Schulze, M. et al. Dose rates of antimicrobial substances in boar semen preservation—time to establish new protocols. *Reproduction in Domestic Animals* 52, 397–402 (2017).
6. Paschoal, A. F. L. et al. Determination of a cooling-rate frame for antibiotic-free preservation of boar semen at 5°C. *PLoS One* 15, 1–14 (2020).
7. Luther, A. M., Nguyen, T. Q., Verspohl, J. & Waberski, D. Antimicrobially active semen extenders allow the reduction of antibiotic use in pig insemination. *Antibiotics* 10, (2021).