

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS DE ARAGUAÍNA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**LEANDRO LOPES NEPOMUCENO**

**SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE  
AVES ABATIDAS SOB INSPEÇÃO NO ESTADO DO TOCANTINS.**

ARAGUAÍNA  
2015

**LEANDRO LOPES NEPOMUCENO**

**SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI*  
ISOLADAS DE AVES ABATIDAS SOB INSPEÇÃO NO ESTADO DO TOCANTINS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, da Universidade Federal do Tocantins, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal Tropical.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sílvia Minharro Barbosa

ARAGUAÍNA

2015

C871s Nepomuceno, Leandro Lopes

Susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli*  
Isoladas de aves abatidas sob inspeção no Estado do  
Tocantins/Leandro Lopes Nepomuceno.-- Araguaína: [s. n],  
2015.

59f.; il.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Minharro Barbosa

LEANDRO LOPES NEPOMUCENO

**SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE AVES ABATIDAS SOB INSPEÇÃO NO ESTADO DO TOCANTINS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, da Universidade Federal do Tocantins, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal Tropical.

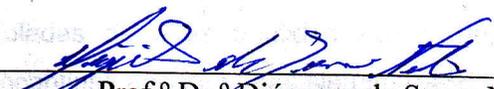
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Minharro Barbosa

Aprovada em: 30/07/2015.

BANCA EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Minharro Barbosa (Orientadora)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Helcileia Dias Santos

  
\_\_\_\_\_  
Prof.º Dr.º Diógenes de Sousa Neto

A Deus por tudo que colocou em meu caminho, aos meus pais pelo apoio e aos amigos sempre presente.

*Na análise final, só contamos para alguma coisa por causa do essencial que encarnamos, e se não encarnamos isso, a vida é desperdiçada.*

**(C.G. Jung)**

## RESUMO

A *Escherichia coli* (*E. coli*) tem sido amplamente estudada, sendo um agente disseminado no ambiente, considerado um microrganismo causador de enfermidades tanto em homens quanto nos animais, representando uma grande ameaça para saúde pública, principalmente ao elevado índice de resistência a antibióticos. O presente estudo teve por objetivo avaliar o perfil de susceptibilidade antimicrobiana de estipes de *E. coli* isoladas de vísceras e do trato aéreo superior de aves condenadas sob inspeção no estado do Tocantins. As aves foram oriundas dos estados de Goiás (GO), São Paulo (SP), Tocantins (TO) e Distrito Federal (DF). Os resultados mostraram que entre os antibióticos testados, seis foram indicados para tratamento de *Escherichia coli* em frangos, Ceftioflur, Florfenicol, Ciprofloxacina, Trimethoprim + Sulfametoxazol, Gentamicina, Amoxicilina + Ácido Clavulânico. Os percentuais de resistência aos antimicrobianos nas cepas analisadas alertam para uma condição de risco destacando sua importância e consequência para a saúde pública. Observou-se que a maioria das amostras apresentaram resistência aos grupamentos produtores de beta-lactâmicos (43%), sulfonamidas (39%) e tetraciclina (47%), sugerindo o caráter de multirresistência das amostras. Pelos dados apresentados nesse estudo a utilização de antibióticos ainda não se tornou um problema dentro da avicultura nos respectivos estados, uma vez que os antibióticos testados foram em sua maioria eficientes sobre *E. coli*. No entanto não se deve fechar os olhos a essa situação uma vez que o perfil de resistência microbiana é mutável desta forma é importante estudos periódicos sobre o padrão antimicrobiano da *Escherichia coli* nas regiões de interesse, pois a susceptibilidade pode variar a partir da pressão dos antibióticos utilizados.

**Palavras-Chave:** Antibiograma. Sensibilidade. Estirpes. Multirresistência

## ABSTRACT

The *Escherichia coli* (*E. coli*) have been widely studied being a scattered agent in the environment considered a causative microorganism of disease in both men as in animals, representing a major threat to public health, especially the high antibiotic resistance index. This study aimed to evaluate the antimicrobial susceptibility profile stems of *E. coli* isolated from viscera and the upper airway tract of poultry convicted under inspection in Tocantins state. The poultry were coming from the states of Goiás (GO), São Paulo (SP), Tocantins (TO) and the Distrito Federal (DF). The results showed that among the antibiotics tested, six were indicated for treatment of *Escherichia coli* in chickens, Ceftioflur, Florfenicol, Ciprofloxacin, Trimethoprim + Sulfamethoxazole, Gentamicin, Amoxicillin + Clavulanic acid. The resistance to antimicrobials in strains percentage analyzed warn of a risk factor highlighting its importance and consequence for public health. It was observed that most of the samples showed resistance to groups of beta-lactam producers (43%), sulfonamides (39%) and tetracycline (47%), suggesting the character of multidrug resistance of the samples. From the data presented in this study, the use of antibiotics has not yet become a problem within the poultry industry in these states since the antibiotics tested were mostly effective on *E. coli*. However, we should not close the eyes to this situation since the microbial resistance profile is mutable in this way is important periodic studies on antimicrobial pattern of *Escherichia coli* in the regions of interest, since the susceptibility can vary from antibiotics pressure used.

**Keywords:** Antibiogram. Sensitivity. Strains. Multidrug Resistance.

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	13
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
2.1. <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	15
2.1.1. <i>Escherichia coli</i> enteropatogênica (EPEC) .....	16
2.1.2. <i>Escherichiacoli</i> enterohemorrágica (EHEC) .....	17
2.1.3. <i>Escherichia coli</i> enterotoxigenica (ETEC).....	17
2.1.4. <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa (EAEC).....	17
2.1.5. <i>Escherichia coli</i> enteroinvasora (EIEC).....	18
2.1.6. <i>Escherichia coli</i> patogênicos para aves (APEC).....	18
1.1. ANTIBIÓTICO .....	18
1.1.1. O uso de antibióticos.....	21
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>23</b>
CAPÍTULO II.....	27
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>33</b>
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>40</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>40</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>41</b>
CAPÍTULO III .....	43
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>47</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>55</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>56</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>59</b>

## LISTA DE TABELA

### CAPÍTULO II

- Tabela 1.** Frequência de susceptibilidade antimicrobiana de 130 estirpes de *Escherichia coli* isoladas de trato respiratório superior e vísceras condenadas com suspeitas clínicas de colibacilose oriunda de aves abatidas sob inspeção no Estado do Tocantins entre agosto de 2010 a junho de 2012.....33
- Tabela 2.** Susceptibilidade a diferentes antibióticos obtidos a partir da média de estirpes de *E. coli* isoladas de vísceras, trato aéreo superior de aves condenadas oriundas dos estados do Distrito Federal, Goiás, São Paulo e Tocantins, abatidas sob inspeção Federal entre agosto de 2010 a junho de 2012.....36
- Tabela 3.** Susceptibilidade a diferentes antibióticos obtidos a partir da média de estirpes de *E. coli* isoladas de vísceras e trato aéreo superior de aves condenadas e abatidas sob inspeção Federal entre agosto de 2010 a junho de 2012.....37

### CAPÍTULO III

- Tabela 1.** Percentual de resistência antimicrobiana por grupos de 80 estirpes de *E. coli* isoladas de trato aéreo superior e vísceras de aves destinadas ao consumo e abatidas sob serviço inspeção no Estado do Tocantins entre agosto de 2010 a junho de 2012.....49
- Tabela 2.** Susceptibilidade a diferentes antibióticos obtidos a partir da média de estirpes de *E. coli* isoladas de vísceras e trato aéreo superior de aves condenadas e abatidas sob inspeção Federal entre agosto de 2010 a junho de 2012.....52
- Tabela 3.** Susceptibilidade a diferentes antibióticos obtidos a partir de estirpes de *E. coli* isoladas de trato aéreo superior e vísceras de aves destinadas ao consumo oriundas do coração, fígado e carcaça abatidas sob inspeção Federal entre agosto de 2010 a junho de 2012.....53

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	-	porcentagem
$\beta$	-	beta
°C	-	grau Celsius
$\mu\text{g}$	-	microgramas
$\mu\text{m}$	-	micrômetro
ATCC	-	American Type Culture Collection
BHI	-	brain heart infusion
Bio-Rad	-	Bio-Rad Laboratórios
CLSI	-	Clinical and Laboratory Standards Institute
CNPq	-	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DF	-	Distrito Federal
<i>E. coli</i>	-	<i>Escherichia coli</i>
F	-	fimbrias
GO	-	Goiás
H	-	antígeno flagelar
IC	-	Intervalo de Confiança
K	-	antígeno capsular
Laborclin	-	Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica
LPS	-	lipopolissacarídeo
mL	-	mililitro
mm	-	milímetros
NCCLS	-	National Committee for Clinical Laboratories Standards
O	-	antígeno somático
PIB	-	produto interno bruto
SECT-TO	-	Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado do Tocantins
SP	-	São Paulo
TO	-	Tocantins
UFT	-	Universidade Federal do Tocantins

**CAPÍTULO I**  
**Revisão Bibliográfica**

## 1. INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de aves possui alta eficiência e eficácia no desenvolvimento de carne avícola, utilizando sistemas tecnológicos avançados buscando sempre inovações que visem produzir proteína animal de alta qualidade, os aspectos sanitários e as boas práticas de fabricação devem andar lado a lado para garantir um produto de qualidade à mesa do consumidor (IBRAHIM et al., 2013).

O significado de alimento de qualidade, no ponto de vista do consumidor, reflete a satisfação visual de um produto em perfeito estado, com características intrínsecas normais como sabor, aroma, aparência, embalagem, preço e disponibilidade. Em muitos casos não é considerado a segurança alimentar nos aspectos relacionados a influencia do alimento sobre a saúde humana. O termo alimento seguro significa a garantia de consumo do alimento no âmbito da saúde coletiva, refletindo em um produto livre de contaminantes de natureza química, física, biológica ou outras substâncias que possam colocar em risco a saúde. (TANSEY; RAJOTTE, 2008; GILSING et al., 2012; LEVIN; BAQUERO; JOHNSEN, 2014).

Problemas com relação à sanidade das aves vão existir em função do tipo de criação, enfermidades surgem como responsáveis pela condenação parcial ou total das carcaças nos matadouros. O sistema de produção empregando na avicultura consiste em maximizar a produção animal em um pequeno espaço, tais feitos pode maior estresse para os animais, afetando sua imunidade, bem como favorecer o aumento de microrganismos no animal e no ambiente. A *Escherichia coli* é um dos principais agentes causadores dessas doenças em aves, demonstra a grande importância do estudo deste agente frente ao setor avícola (MENIN et al., 2008; ROCHA, 2010).

A evolução e a disseminação de microrganismos resistentes aos antibióticos são resultados da pressão seletiva imposta pelo homem, seja pelas prescrições desnecessárias desses medicamentos, pelo uso incorreto em tratamentos sem diagnóstico estabelecido, automedicação ou resíduo de antimicrobianos no meio ambiente (LEVIN; BAQUERO; JOHNSEN, 2014).

As bactérias podem adquirir resistência aos antibióticos modificando o seu genoma por mutação ou incorporação de genes provenientes de outros microrganismos por diferentes processos de transferência genética. Os estudos envolvendo transferência de genes *in vitro* que envolvem patógenos intestinais, como *E coli*, demonstra a capacidade de adquirir

genes de resistência. Assim, novas bactérias não resistentes a antibióticos, podem se tornar resistentes ao adquirem os genes de resistências (FRANZ et al., 2014).

O objetivo deste estudo é fazer um levantamento sobre o estado da arte referente ao uso de antibióticos no controle *Escherichia coli* de aves, a partir de um levantamento bibliográfico.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. *ESCHERICHIA COLI*

A *Escherichia coli* (*E. coli*) tem sido amplamente estudado, sendo um agente disseminado no ambiente, podendo ser encontrado particularmente nas fezes, sobretudo onde os cuidados de higiene e limpeza são ineficientes. Normalmente coloniza o trato gastrointestinal de humanos e animais, onde faz parte da flora normal e estabelece uma relação benéfica com seu hospedeiro. Contudo, existem algumas cepas que são extremamente virulentas e capazes de causar doenças graves ao portador (FERJANIA et al., 2015).

Existem relatos que estirpes de *E. coli* que colonizam o trato intestinal de frangos, carcaça e vísceras, as quais são transmitidas aos humanos através da alimentação, do contato ou por contaminação cruzada nas linhas de processamento (FERJANIA et al., 2015; LERMA et al., 2013).

A *E. coli* é um bastonete curto Gram-negativo pertencente à família *Enterobacteriaceae*, com tamanho variando de 1,1 - 1,5 µm de largura por 2 - 6 µm de comprimento. Em ágar se apresentam na cor rosa clara circundada por um precipitado, contendo borda lisa ou rugosa. Quanto ao aspecto, são observadas colônias brilhantes a fosca ou mesmo amorfas (NATARO; KAPER, 1998).

Por se tratar de um microrganismo comensal a identificação somente da espécie não apresenta influência significativa quanto à sua importância, é possível continuar a classificação das *E. coli* com base em certas reações imunológica. A reação de soro aglutinação baseia-se no fato de cada microrganismo MacConkey as colônias por expressa diferentes antígenos em sua superfície, esses antígenos são: O (antígeno do lipopolissacarídeo - LPS), H (antígeno flagelar), K (antígeno capsular) e F (Fimbrias). Os microrganismos que aglutinam com sorotipos específicos são classificados por sorogrupo, uma combinação específica de antígeno O e H e em alguns casos o K, define o sorogrupo específico, contudo, não são os sorogrupos que atribuem a característica virulenta ao agente e sim os fatores de virulência (KAUFFMANN, 1947; JAFARI et al., 2012).

O sorotipo e o sorogrupo servem como marcadores cromossômicos facilitando a identificação de microrganismos virulentos, pois cada sorogrupo e sorotipo possuem características individuais quanto à resposta contra antibióticos ou com relação à patogenicidade (SCHROEDER et al., 2002; CÁRDENAS-PEREA et al., 2014).

O conhecimento dos sorotipos e dos genes de virulência envolvidos nos casos de *E. coli* podem proporcionar informações completas das propriedades biológicas dessas bactérias, seu grau de patogenicidade, assim como sua capacidade de invadir, colonizar e replicar em seu hospedeiro natural (GLÄSER et al., 2004). Os avanços nas pesquisas para diagnosticar os microrganismos resultam em um maior entendimento dos mecanismos de patogenicidade das bactérias (TAN et al., 2012).

A *E. coli* podem ser classificados em dois grandes grupos, as *E. coli* diarreio gênica (DEC) e *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC). Dentre os sorogrupos patogênicos de DEC, podemos classificar cinco categorias bem definidas com base nas diferentes síndromes e características das enfermidades causadas por estes patógenos, *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* enteroinvasora (EIEC) (JAFARI et al., 2012; NATARO; KAPER, 1998).

Estudos com aves demonstraram uma fenotipagem de *E. coli* característica, a mesma afeta praticamente todos os órgãos das aves, causando infecções intestinais e extraintestinais, classificadas como *E. coli* patogênicos para aves (APEC) são responsáveis por diferentes quadros infecciosos, atuando como agente primário ou secundário. Diferentes antígenos podem ser encontrados na superfície bacteriana. A habilidade para distinguir estes isolados sorológicos é importante para esclarecer quais tipos de *E. coli* podem causar diarreia ou outras doenças (SALEHI; BONAB, 2006).

### **2.1.1. *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC)**

A EPEC, também denominada *E. coli* Enteropatogênicas Clássica foi o primeiro patótipo de *E. coli* a ser descrita e estudada, seu enfoque na pesquisa e sua grande importância esta relacionada aos recém-nascidos, como a maior causadora de diarreia de crianças em países em desenvolvimento (BERTÃO; SARIDAKIS, 2007).

Este microrganismo pode ser subdividido em mais duas categorias, EPEC típica e EPEC atípica, a principal característica, são a não produção de toxina Shiga (Stx) e a capacidade de causar lesão histopatológica no epitélio intestinal. Ambas se diferem somente quanto ao sorotipo e à presença de plasmídeo *eaf* encontrado na EPEC típica (BLANCO et al., 2006).

### **2.1.2. *Escherichiacoli* enterohemorrágica (EHEC)**

A EHEC recebeu esse nome em virtude do sinal clínico diarreínogênico (colite hemorrágica). Diversos animais de produção podem albergar EHEC, incluindo galinhas, gatos, cães e porcos, mas os ruminantes são os principais associados a esse patógeno, sendo os bovinos o principal reservatório do sorogrupo O157:H7 no trato gastrointestinal (MAYR et al., 2012; VILTE et al., 2011).

O principal fator de virulência das EHEC é a toxina de Shiga (Stx), existem dois tipos de toxina Stx1 e Stx2, dentre elas a Stx2, apresenta um caráter mais patogênico, pois está intimamente ligada a síndrome hemolítica urêmica, uma doença caracterizada por insuficiência renal aguda (uremia), anemia hemolítica e diminuição do número de plaquetas (trombocitopenia), além de complicações do tipo neurológico (convulsões, acidentes vasculares cerebrais e coma) (WEISSENBORN et al., 2012).

### **2.1.3. *Escherichia coli* enterotoxigenica (ETEC)**

As ETEC são bactérias produtoras de enterotoxinas termolábil (LT) e termoestável (ST), estão associados a diversos sorotipos com distribuição universal. Dependendo do sorotipo há produção das duas toxinas (LT e ST) tornando as mais patogênicas (RIVERA et al., 2013).

Após a sua penetração via oral, as ETEC atravessam a barreira gástrica, se aderem à superfície celular da mucosa intestinal pelas estruturas presente na superfície da membrana, produzindo assim os fatores de colonização e enterotoxinas (ALMEIDA, 2013).

### **2.1.4. *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC)**

O sorotipo EAEC, caracteriza-se pelo padrão agregativo exclusivo, denominado adesão agregativa (AA). O padrão AA está ligado a estruturas de adesinas fimbriais (*aaf* – “aggregative adherence factors”) fora classificadas a partir de estudos com microscopia eletrônica de transmissão e de teste de hemaglutinação, estabelecendo três diferentes estruturas (*aaf/I*, *aaf/II* e *aaf/III*). A *aaf/I* é uma estrutura de feixe flexível, apresentando entre 2 e 3 nm de diâmetro, *aaf/II* por sua vez é uma estrutura de feixes rígido, com 5 nm de diâmetro, já *aaf/III* foi observada como filamentos individuais constituídos por longas estruturas, fimbrias, flexíveis ao longo da parede microbiana (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

O padrão agregativo constitui na aderência de bactérias umas às outras sobre as células epiteliais ou mesmo na membrana basal epitelial. A grande importância da EAEC envolve sua patogenicidade emergencial, classificada como diarreia persistente, manifestando um grande interesse à saúde pública. Sua distribuição é cosmopolita e desencadeia infecção em adultos e crianças, sendo estas mais susceptíveis a enfermidade (RODRÍGUEZ; CERVANTES; ORTIZ, 2013).

### **2.1.5. *Escherichia coli* enteroinvasora (EIEC)**

É um importante agente causador de diarreia no homem, provocando infecções graves devido a sua patogenicidade agressiva. Interagem principalmente com a mucosa do colón, invadindo e destruindo a camada epitelial, além de processo inflamatório e irritabilidade. Clinicamente a doença é acompanhada de febre, mal estar, cólicas abdominais e diarreia aquosa com disenteria, poucas fezes, presença de muco e sangue. Embora tenha sido descrita como microrganismo imóvel, com exceção do sorotipo O124:H30, as EIEC têm como fator de virulência a capacidade de invasão e a presença de toxina termolábil (VAN DEN BELD; REUBSAET, 2012).

### **2.1.6. *Escherichia coli* patogênicos para aves (APEC)**

As APEC podem ser encontradas naturalmente no trato gastrointestinal das aves, provocando infecções no hospedeiro, quando o mesmo se encontra imunossuprimido ou debilitado. A transmissão das APEC é vertical, no momento da postura as bactérias podem atravessar a casca do ovo levando o embrião ao primeiro contato com a *E. coli* (KNÖBL; CAPPELLETE; VIGILATO, 2012).

A contaminação oronasal é a mais frequente e de maior importância em criadouro, pois aves jovens de 3 a 12 semanas de idade mostram se mais susceptíveis a quadros respiratório desencadeando lesão, perda de cílios e acúmulo de muco (SCHOULER et al., 2012). As cepas de APEC apresentam fatores de virulência bastante específicos e variados, caracterizados por adesinas, toxinas, sideróforos e colicinas(PACE et al., 2011).

## **2.2. ANTIBIÓTICO**

Os antimicrobianos são substâncias químicas usadas para combater os microrganismos patogênicos. Podem ser classificados como inespecíficos, quando atuam sobre bactérias em

geral (patogênicas ou não), pertencem a este grupo os antissépticos e os desinfetantes, ou específicos, quando atuam sobre microrganismos responsáveis por doenças infecciosas que acometem os animais, sem a interação deletéria do hospedeiro, sendo os quimioterápicos e os antibióticos (CHAPMAN, 2013; SUKUMARAN et al., 2015)

Os antibióticos são substâncias que tem a função de inibir ou evitar o crescimento bacteriano, sendo classificados como bactericidas, quando provocam a morte microbiana, ou como bacteriostáticos, quando inibem o crescimento do mesmo. Para desenvolver o mecanismo de ação desejado, os antibióticos atuam através de diferentes mecanismos para promover a ação desejada (BERNATOVÁ et al., 2013).

Existem três condições básicas para promover essa ação, primeiro o antibiótico deve ligar a um sítio específico do microrganismo, para exercer sua função. Apesar de existir diversos sítios ativo para diferentes grupos de antibióticos, a função básica é a mesma, interromper um ponto das diversas reações bioquímica dos microrganismos, se a reação é vital para a bactéria, o antibiótico será deletério. A segunda condição consiste na concentração mínima do fármaco, para se ligar aos sítios ativo em uma quantidade necessária para promover. Por fim, o agente deve permanecer no sítio por um período de tempo hábil para exercer a ação desejada com perfeição. (MCKELLAR; SANCHEZ BRUNI; JONES, 2004).

Dependendo do grupo de antibiótico utilizado, sua ação antimicrobiana pode variar, existem aqueles que agem inibindo a síntese da parede celular, inibindo a síntese de proteínas, inativando a ação dos ribossomos, bloqueando a transcrição do DNA ou mesmos alterando a permeabilidade da membrana (BERNATOVÁ et al., 2013).

Os  $\beta$ -lactâmicos atua inibindo parcialmente ou totalmente a multiplicação e crescimento de microrganismos através da hidrólise do anel beta-lactâmico do núcleo estrutural das penicilinas. Neste grupo encontram-se as penicilinas, carbapenem, cefalosporinas, ácido clavulânico (MACEDO et al., 2005). Existem grupos de antibióticos que agem na inibição da síntese de proteínas, através da inativação dos ribossomos, pertencente a esse grupo são as tetraciclinas, cloranfenicol, os aminoglicosídeos e alguns derivados dos macrólidos (WILSON, 2014).

As sulfonamidas (sulfametoxazol, trimetropim) são análogos estruturais do PABA (ácido para-aminobenzóico) e interferem através da inibição competitiva, alterando o metabolismo normal do microrganismo, atuando especificamente sobre a síntese do ácido fólico, que por sua vez desempenha uma função essencial para a replicação das bactérias. As quinolonas agem diretamente no DNA, inibindo a ação da DNA girase, que é uma enzima que

catalisa a direção e a extensão da cadeia de DNA (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

O uso dos antibióticos foi um grande avanço para o tratamento de diversas enfermidades infecciosas, tanto na medicina humana quanto na veterinária. Os mesmos são muito importantes na redução da morbidade e mortalidade das doenças, sendo a primeira escolha no tratamento da mesma. Uma variedade de fármacos com princípios ativos diferentes são encontrados no mercado, o qual se torna importante à avaliação da eficiência desses medicamentos frente aos microrganismos (DHEILLY et al., 2013).

A resistência antimicrobiana é um problema com implicações graves no tratamento dos animais, pois o desenvolvimento da resistência por certas bactérias patogênicas é mais rápido que a capacidade da indústria em produzir novos medicamentos, sendo sempre mais cara, influenciando diretamente no preço do produto final, tendo um período de carência maior para a metabolização (WEBER et al., 2015).

O maior desafio na área de produção animal tem sido a procura por alternativas que reduzam o uso dos antibióticos. Esta vertente é consequência direta das pressões impostas por legislações de países que importam produtos de origem animal, como por exemplo, a comunidade europeia, que proíbe a inclusão de antibióticos nas dietas de frango de corte e outras espécies animal (POINTS et al., 2015).

Os animais portadores de bactérias resistentes são uma grande ameaça para saúde pública, pois, existe a possibilidade de que os genes que codificam a resistência aos antimicrobianos, podem ser transferidos de uma bactéria a outra através dos plasmídeo, transposon e os integrons. A *E. coli* é predisponente para tais transferências devido a grande quantidade de cepas e sua capacidade de sobrevivência no trato gastrointestinal, tanto de homens quanto de animais (ABOKLAISH et al., 2014; HSU et al., 2014).

As bactérias desenvolveram diversos mecanismos para burlar a ação dos antibióticos, podendo ser subdividida em dois tipos básicos: resistência intrínseca e resistência adquirida. A resistência intrínseca descreve um “status” de insensibilidade geral da bactéria a agentes antimicrobianos específicos ou a classe de agentes. A resistência adquirida é uma variante em gênero ou espécie-específica que pode ocorrer devido a aquisição de genes de resistência estranhos ou a mutações cromossômicas de genes alvos (MACEDO et al., 2005; GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; WILSON, 2014).

Compreender o porquê da resistência bacteriana acaba se tornando complexo e em geral, envolve combinações de diversos eventos, incluindo mutações de genes, troca de

material genético entre microrganismos ou aumento na pressão seletiva a partir do uso abusivo de antimicrobianos (BÉLANGER et al., 2011).

As modificações dos genes de resistência ocorrem por meio de transformação, transdução, conjugação ou transposição. A transformação incorpora genes presentes no meio, proveniente de outras bactérias. A transdução consiste na transferência do gene de resistência de uma bactéria para outra por meio de um bacteriófago ou fago. Na conjugação, a transferência do gene de resistência é feita através de uma ponte citoplasmática que é estabelecida entre duas bactérias. Na transposição ocorre transferência de genes por meio de transposons (PORTER; DORMAN, 1997).

A conjugação é o principal mecanismo que proporciona a transferência de plasmídeos de resistência entre as cepas e *E. coli* (ZHAO et al., 2009; BÉLANGER et al., 2011). A mutação, transdução e transformação são as formas de resistência mais comuns em bactérias Gram positivas e Gram negativas, nesta última predomina a forma de transposição (STOTZKY; DEVANAS; ZEPH, 1990; AGRONA; SOBECKYB; ANDERSEN, 2002).

### **2.2.1. O uso de antibióticos**

Os antibióticos são amplamente utilizados para tratar e prevenir as infecções. São partes integrantes da produção animal e no controle de enfermidades em humanos. Na produção animal, existem muitos usos para os antimicrobianos: na terapia, no controle, como promotores do crescimento e na profilaxia.

O uso dos antibióticos na produção de frango iniciou em 1940, quando os mesmos foram alimentados com subprodutos de fermentação de tetraciclina promovendo o crescimento acelerado dos animais que receberam a dieta em relação aos animais que não foram alimentados com o fermentado (STOKESTAD et al., 1949; PHILLIPS et al., 2004). Essa prática se tornou popular a medida que os custos da produção reduziam e o ganho dos produtores aumentava, novos subprodutos foram estudados e diferentes antimicrobianos foram adicionados à alimentação animal com o intuito de promover o ganho de peso, essas substâncias são conhecidas como promotores de crescimento (GASKINS; COLLIER; ANDERSON, 2002).

Os antibióticos que são utilizados na medicina humana pertencem a mesmas classes dos antimicrobianos utilizados em animais, e em alguns casos apresentam o mesmo mecanismo de ação, essa relação próxima dos fármacos proporciona preocupação à saúde pública. Dentre os fármacos utilizados encontram-se os agentes  $\beta$ -lactâmicos e suas variações

como a penicilina G, as cefalosporinas e os carbapenêmicos desempenhando um papel importante para tratamento de microrganismos, as sulfonamidas com ou sem trimethoprim, macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas, fluoroquinolonas, tetraciclina, aminoglicosídeos e glicopéptidos são amplamente utilizados em humanos, principalmente em hospitais (DENS, 2003; HAMMERUM; LESTER; HEUER, 2010).

O uso indiscriminado desses medicamentos leva a uma resistência, sendo um problema para todas as áreas da saúde, seja médica ou agrária, essa situação vem se agravando nas últimas décadas, com o abandono das indústrias em sintetizar novos fármacos, limitando assim as possibilidades terapêuticas. Em consequência, nas últimas duas décadas relato de multirresistência vem se tornando frequente, e esses microrganismos foram popularmente intitulado de “Superbactéria”, devido à capacidade de resistir a todos e/ou a maioria dos antibióticos mais utilizados (RIBEIRO; COMARELLA, 2015).

Diversos estudos aponta os principais microrganismos multirresistente, dentre eles *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis* e principalmente a *Escherichia coli*, os mesmos já não são mais tratados com antibiótico terapia convencionais em virtude da multirresistência adquirida (DE MOURA PINTO et al., 2014).

Desta forma, a aplicação da pesquisa e o desenvolvimento de conhecimento são de interesse da saúde pública para garantir a segurança alimentar, os problemas derivado de contaminação de carne de frango e subprodutos com *Escherichia coli*, reflete grande importância no desenvolvimento de doenças, agravado pela resistência microbiana de estipes patogênicas.

## REFERÊNCIAS

- ABOKLAISH, A. F. et al. Random insertion and gene disruption via transposon mutagenesis of *Ureaplasma parvum* using a mini-transposon plasmid. **International Journal of Medical Microbiology**, v.304, n.8, p.1218-1225, 2014.
- AGRONA, Peter G.; SOBECKYB, Patricia; ANDERSEN, Gary L. Establishment of uncharacterized plasmids in *Escherichia coli* by in vitro transposition. **FEMS Microbiology Letters**, v.217, n.2, p.249-254, 2002.
- ALMEIDA, Rosane Mansan. ***Escherichia coli* de adesão difusa (DAEC) isoladas de crianças e de adultos constituem duas populações diferentes**. 2013. 121f. Monografia. (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília. Brasília, 2013.
- BÉLANGER, L. et al. *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.62, n.1, p.1-10, 2011.
- BERNATOVÁ, S. et al. Following the mechanisms of bacteriostatic versus bactericidal action using Raman spectroscopy. **Molecules**, v.18, n.11, p.13188-13199, 2013.
- BERTÃO, Ariane Mayumi Saito; SARIDAKIS, Halha Ostrensky. *Escherichia coli* produtora de toxina shiga (STEC): principais fatores de virulência e dados epidemiológicos. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 28, n. 2, p. 81-92, 2007.
- BLANCO M. et al. Identification of two new intimin types in atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. **International Microbiology**, v. 9, n. 2, p. 103-110, 2006.
- CÁRDENAS-PEREA, M. E. et al. Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. **Elementos**, v.21, n.94, p.35-43, 2014.
- CHAPMAN, John S. Biocide resistance mechanisms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.51, n.2, p.133-138, 2013.
- DE MOURA PINTO, F. et al. Prevalência de carbapenemases em enterobactérias resistentes a carbapenêmicos em quatro hospitais terciários de Porto Alegre. **Clinical & Biomedical Research**, v. 34, n. 1, 2014.
- DENS, F. W. An alternative for antibiotic se in poultry: probiotics. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, n. 2, p. 75-97, 2003.
- DHEILLY, A. et al. Antimicrobial resistance selection in avian pathogenic *E. coli* during treatment. **Veterinary Microbiology**, v.166, n.3-4, p.655-658, 2013.
- FERJANIA, S. et al. A comparative study of antimicrobial resistance rates and phylogenetic groups of community-acquired versus hospital-acquired invasive *Escherichia coli*. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v.45, n.4, p.133-138, 2015.
- FRANZ, E. et al. Exploiting the explosion of information associated with whole genome sequencing to tackle Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in global food production systems. **International Journal of Food Microbiology**, v.187, p.57-72, 2014.

- GASKINS, H. R.; COLLIER, C. T.; ANDERSON, D. B. Antibiotics as growth promotants: mode of action. **Animal Biotechnology**, v. 13, n. 1, p. 29-42, 2002.
- GILSING, A. M. J. et al. Longitudinal Changes in BMI in Older Adults Are Associated with Meat Consumption Differentially, by Type of Meat Consumed. **The Journal of Nutrition**, v.142, n.2, p.340-349, 2012.
- GLÄSER, R. et al. Antimicrobial psoriasin (S100A7) protects human skin from *Escherichia coli* infection. **Nature Immunology**, v.6, p.57-64, 2004.
- GUIMARÃES, Denise Oliveira; MOMESSO, Luciano da Silva; PUPO, Mônica Tallarico. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Revista Química Nova**, v.33, n.3, p.667-679, 2010.
- HAMMERUM, ANETTE M; LESTER, CAMILLA H.; HEUER, Ole E. Antimicrobial-Resistant Enterococci in Animals and Meat: A Human Health Hazard? **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 7, n. 10, p. 1137-1146, 2010.
- HSU, J. T. et al. Prevalence of sulfonamide-resistant bacteria, resistance genes and integron-associated horizontal gene transfer in natural water bodies and soils adjacent to a swine feedlot in northern Taiwan. **Journal of Hazardous Materials**, v.277, p.34-43, 2014.
- IBRAHIM, M. A. et al. Seroepidemiological Studies on Poultry Salmonellosis and its Public Health Importance. **Journal of World's Poult. Research**. v.3, n.1, p.18-23, 2013.
- JAFARI, A. et al. *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. **Iranian journal of microbiology**, v.4, n. 3, p. 102-117, 2012.
- JAFARI, A.; ASLANI, M. M.; BOUZARI, S. *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 102-17, 2012.
- KAPER, James B.; NATARO, James P.; MOBLEY, Harry L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123-40, 2004.
- KAUFFMANN, F. The serology of the Coli group. **Journal of Immunology**, v. 57, n. 1, p. 71-100, 1947.
- KNÖBL, T.; CAPPELLETE, C. P.; VIGILATO, M. A. N. Enterobacteria Isolation in Ostrich Eggs (*Struthio camelus*). **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 14, n. 1, p. 33-36, 2012.
- LERMA, L. L. et al. Prevalence of bacteria resistant to antibiotics and/or biocides on meat processing plant surfaces throughout meat chain production. **International Journal of Food Microbiology**, v.161, n.2, p.97-106, 2013.
- LEVIN, Bruce R.; BAQUERO, Fernando; JOHNSEN, Pål J. A model-guided analysis and perspective on the evolution and epidemiology of antibiotic resistance and its future. **Current Opinion in Microbiology**, v.19, p.83-89, 2014.
- MACEDO, M. de L. de A. P. et al. Mecanismos de resistência e detecção das beta-lactamases. **Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 7, n. 1, p. 59-63, 2005.

MAYR, U. B. et al. Rectal single dose immunization of mice with *Escherichia coli* O157: H7 bacterial ghosts induces efficient humoral and cellular immune responses and protects against the lethal heterologous challenge. **Microbial biotechnology**, v. 5, n. 2, p.283-294, 2012.

MCKELLAR, Q. A.; SANCHEZ BRUNI, S. F.; JONES, D. G. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 503-514, 2004.

MENIN, Á. et al. Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp, **Ciência Rural**, v.38, n.6, p.1687-1693, 2008.

NATARO, James P.; KAPER James B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 1 p. 142–201, 1998.

PACE, F. et al. Characterization of IcmF of the type VI secretion system in an avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strain. **Microbiology**, v. 157, p. 2954–2962, 2011.

PHILLIPS, I. et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 28-52, 2004.

POINTS, J. et al. Forensic issues in the analysis of trace nitrofurantoin veterinary residues in food of animal origin. **Food Control**, v.50, p.92-103, 2015.

PORTER, Megan E.; DORMAN, Charles J. Virulence gene deletion frequency is increased in *Shigella flexneri* following conjugation, transduction, and transformation. **FEMS Microbiology Letters**, v.147, n.1, p.163-172, 1997.

RIBEIRO, J. L.; COMARELLA, L. Bactérias Multirresistentes e Emergência da Resistência Tipo New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase -1 (NDM-1), **Revista UNIANDRADE**, v. 16, n. 2, p. 109-118, 2015.

RIVERA, F. P. et al. Genotypic characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains causing traveler's diarrhea. **Journal of clinical microbiology**, v. 51, n. 2, p. 633-635, 2013.

ROCHA, Tatiane Martins; **Fatores de virulência de *Escherichia coli* patogênica para aves**. 2010. f31. Tese - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010. Disponível em <[http://portais.ufg.br/uploads/67/original\\_Tatiane\\_Rocha\\_1c.pdf](http://portais.ufg.br/uploads/67/original_Tatiane_Rocha_1c.pdf)>. Acesso em: 22 mar. 2014.

RODRÍGUEZ, Leonor; CERVANTES, Elsa; ORTIZ, Rocío. Malnutrition and gastrointestinal and respiratory infections in children: a public health problem. **International journal of environmental research and public health**, v. 8, n. 4, p. 1174-1205, 2011.

SALEHI, T. Zahraei; BONAB, S. Farashi. Antibiotics Susceptibility Pattern of *Escherichia coli* Strains Isolated from Chickens with Colisepticemia in Tabriz Province, Iran. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 7, p. 677-684, 2006.

SCHOULER, C. et al. Diagnostic Strategy for Identifying Avian Pathogenic *Escherichia coli* Based on Four Patterns of Virulence Genes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 5 p. 1673–1678, 2012.

SCHROEDER, C M. et al. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, n.2, p.576-581, 2002.

STOKESTAD, E. L. R. et al. The multiple nature of the animal protein factor. **Journal of Biological Chemistry**, v.180, p. 647–54, 1949.

STOTZKY, G.; DEVANAS, Monica A.; ZEPH, Lawrence R. Methods for Studying Bacterial Gene Transfer in Soil by Conjugation and Transduction. **Advances in Applied Microbiology**, v.35, p.57-169, 1990.

SUKUMARAN, A. T. et al. Reduction of Salmonella on chicken meat and chicken skin by combined or sequential application of lytic bacteriophage with chemical antimicrobials. **International Journal of Food Microbiology**, v.207, p.8-15, 2015.

TAN, C. et al. Serotypes and virulence genes of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates from diseased pigs in China. **The Veterinary Journal**, v.92, n.3, p.483-488, 2012.

TANSEY, Geoff; RAJOTTE, Tasmir. **The Future Control of Food: A Guide to International Negotiations and Rules on Intellectual Property, Biodiversity and Food Security**, London: Earthscan, 2008.

VAN DEN BELD, M. J. C.; Reubsæet, F. A. G. Differentiation between Shigella, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 31, p. 899–904, 2012

VILTE, D. A. et al. Reduced faecal shedding of *Escherichia coli* O157: H7 in cattle following systemic vaccination with  $\gamma$ -intimin C 280 and EspB proteins. **Vaccine**, v. 29, n. 23, p.3962-3968, 2011.

WEBER, T. et al. Metabolic engineering of antibiotic factories: new tools for antibiotic production in actinomycetes. **Trends in Biotechnology**, v.33, n.1, p.15-26, 2015.

WEISSENBORN, K. et al. Neurologic manifestations of *E. coli* infection–induced hemolytic-uremic syndrome in adults. **Neurology**, v. 79, n. 14, p. 1466-1473, 2012.

WILSON, Daniel N. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance **Nature Reviews Microbiology**, v.12, n.1, p.35-48, 2014.

ZHAO, L. et al. Comparison of virulence factors and expression of specific genes between uropathogenic *Escherichia coli* and avian pathogenic *E. coli* in a murine urinary tract infection model and a chicken challenge model. **Microbiology**, v.155, n.5, p.1634-1644, 2009.

## CAPÍTULO II

**Susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de aves condenadas por colibacilose pela inspeção federal no Estado do Tocantins.**

## **Susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de aves condenadas por colibacilose pela inspeção federal no Estado do Tocantins.**

### **ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *ESCHERICHIA COLI* ISOLATED FROM POULTRY CONVICTED OF COLIBACILLOSIS BY IN THE STATE OF TOCANTINS.**

**Resumo:** O presente estudo tem por objetivo avaliar o perfil de susceptibilidade antimicrobiana de 130 *Escherichia coli* isoladas de vísceras e do trato respiratório superior de aves condenadas por colibacilose pela inspeção federal no estado do Tocantins. As aves abatidas neste estudo foram provenientes dos estados de Distrito Federal, Goiás, São Paulo e do Tocantins. Os resultados mostraram que 76% das estipes proveniente do estado do GO apresentaram sensibilidade aos antibióticos testados, o estado do Tocantins apresentou 72%, DF e SP apresentaram 65% e 62% respectivamente aos antibióticos analisados. Quando analisado o perfil de sensibilidade dos grupos formados, observou-se que a maioria das amostras foram sensíveis, com maior destaque ao grupo das Pleuromutilinas (93%), seguidos dos Aminoglicosídeos (88%) e Quinolonas/Fluoroquinolonas (77%). Das estipes isoladas 30,76% apresentaram multirresistência aos antimicrobianos testados. Nas condições experimentais deste trabalho, entre os antibióticos testados, seis são indicados para tratamento de *Escherichia coli* em frangos, Ceftioflur, Florfenicol, Ciprofloxacina, Trimethoprim + Sulfametoxazol, Gentamicina, Amoxicilina + Ácido Clavulânico. Pelos dados apresentados a utilização de antibióticos ainda não se tornou um problema dentro da avicultura, uma vez que os antibióticos testados foram em sua maioria eficientes sobre *E. coli*.

**Palavras-chave:** Sensibilidade. Estirpes. Produção Animal.

**Abstract:** The present study objective to assess the antimicrobial susceptibility profile of 130 *Escherichia coli* isolated from viscera and upper respiratory tract of poultry convicted colibacillosis by federal inspection in the State of Tocantins. The poultry slaughtered in this study were from the States of Federal District, Goiás, São Paulo and Tocantins. The results showed that 76% of the stems from the State GO showed sensitivity to antibiotics tested, the State of Tocantins presented 72%, 65% were submitted by DF and SP and 62% respectively to antibiotics. When analyzed the sensitivity profile of the groups, it was observed that most of the samples were sensitive, with greater emphasis on group of Pleuromutilins (93%), followed by the Aminoglycosides (88%) and Quinolones Fluoroquinolones (77%). The stipes 30.77% showed isolated multidrug resistance to antimicrobials tested. In the experimental conditions of this work, between the antibiotics tested, six are indicated for treatment of *Escherichia coli* in chickens, Ceftioflur, Florfenicol, Ciprofloxacin, Trimethoprim + Sulfamethoxazole, Gentamicin, Amoxicillin + Clavulanic Acid. The data presented the use of antibiotics has not yet become a problem within the poultry, since antibiotics tested were mostly efficient about *E. coli*.

**Key words:** Sensitivity. Strains. Animal Production.

## 1. INTRODUÇÃO

De acordo com AgroStat Brasil a partir dos dados da SECEX/MDIC, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de aves de corte, e lidera o ranque de exportação, contribuindo com renda de 78.392.941 US\$, produzindo um total de 30.653.340 toneladas de carne de frango industrializada entre julho de 2014 a julho de 2015 (AGROSTAT BRASIL, 2015).

Com o crescente aumento da população ano a ano, a demanda por alimento cresce em proporção exponencial, exercendo uma maior pressão pela produção de alimentos. Tais exigências levam os produtores a adotarem um sistema de produção intensivo, que maximiza a produção animal em uma pequena área (FIORENTINO et al., 2012).

No entanto, a produção animal em uma elevada densidade pode acarretar em maior estresse para os animais, afetando sua imunidade, e rompendo o equilíbrio microbiológico do ambiente e do animal. Em caso de desequilíbrio entre a imunidade dos animais e o ambiente surgem as enfermidades infecciosas (MENIN et al., 2008; ROCHA, 2010).

O emprego dos antibióticos ainda é comumente utilizado na produção animal e humana. Os mesmos são importantes na redução da mortalidade e morbidade das doenças, ainda sendo os medicamentos de primeira escolha no tratamento de infecções. Por essa razão uma grande quantidade de medicamento é encontrada no mercado para melhor atender as necessidades, tornando assim indispensável à avaliação da eficiência desses fármacos frente aos microrganismos (DHEILLY et al., 2013).

Dentre estes patógenos, a *Escherichia coli* (*E. coli*) assume grande importância, por estar associada a infecções primárias e secundárias, bem como ao elevado índice de resistência a antibióticos. A mesma pode causar quadros clínicos de onfalite, salpingite, aerossaculite, septicemia e principalmente enterites, que influenciam diretamente no ganho de peso do animal, convergindo em baixo lucro para o produtor (RIBEIRO et al., 2006).

Em geral, os prejuízos econômicos são derivados do aumento da mortalidade, menor desenvolvimento das aves, redução do consumo, diminuição da conversão alimentar, além do aumento no uso de medicamentos e serviços veterinários, refletindo em um produto de baixa qualidade com elevado custo ao final da cadeia produtiva (MENIN et al., 2008).

A *E. coli* é uma bactéria Gram negativa, anaeróbia facultativa predominantemente encontrada no trato gastrointestinal de mamíferos e aves. Infecções provocadas por *E. coli* podem ser delimitadas a superfície da mucosa ou mesmo se disseminar por todo o corpo

(septicemia), podendo desencadear quadros clínicos bastantes específicos de contaminação bacteriana (BÉLANGER et al., 2011; CHANSIRIPORNCHAI et al., 2011).

A capacidade das bactérias em transferir o material genético para outras, tem um papel importante na disseminação de genes de resistência entre as populações. Desta maneira, a resistência aos antimicrobianos representa um sério problema por limitar as possibilidades terapêuticas (CÁRDENAS-PEREA et al., 2014).

O uso indiscriminado dos antibióticos na produção animal tem sido apontado como uma das possíveis causas do aparecimento de estirpes resistentes (WEBER et al., 2015). Seu uso constante e sem o devido conhecimento de causa e efeito pode contribuir para o aparecimento da resistência e dificultar o tratamento das infecções por agentes bacterianos (DHEILLY et al., 2013).

A resistência antimicrobiana é um problema com graves implicações clínicas, por apresentar essa alta capacidade mutagênica, portanto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o perfil de susceptibilidade antimicrobiana de estirpes de *Escherichia coli* isoladas de vísceras e do trato aéreo superior de aves condenadas sob inspeção no estado do Tocantins.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram submetidas 130 estipes de *E. coli* isoladas de fígado, coração e suabes de trato aéreo superior (traqueia, fenda palatina e sacos aéreos) de aves comerciais condenadas por lesões características de colibacilose (aerossaculite, pericardite e hepatite), provenientes dos estados de Distrito Federal, Goiás, São Paulo e Tocantins, abatidas sob serviço de inspeção federal no estado do Tocantins. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Campus de Araguaína da Universidade Federal do Tocantins, onde foram submetidas aos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos.

Suabes e fragmentos de órgãos foram inoculados em Caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubados a 37°C por 24 horas. Após incubação, o material foi inoculado em placa contendo ágar MacConkey, incubado a 37°C por 24 horas. As colônias com características típicas de *E. coli* foram confirmadas através da bioquímica. A identificação e a conservação das estirpes procederam-se conforme a metodologia descrita por Krieg; Holt, (1984).

Para os testes de susceptibilidade as amostra estocadas em ágar nutriente após isolamento foram repicadas em ágar MacConkey e incubadas a 37°C por 24h para o devido crescimento e obtenção de colônias isoladas. Após este procedimento 1 a 3 colônias foram transferidas para 1mL de caldo Mueller Hinton. A cultura em caldo foi incubada em estufa a 37°C até alcançar o grau de turbidez de uma solução padrão de McFarland a 0,5 (aproximadamente  $10^8$  microrganismos/mL) por volta de 2 horas ou ate apresentar a turbidez desejada. Esse processo foi realizado para cada amostra de *E. coli* processada.

A realização do antibiograma e sua interpretação seguiu a metodologia proposta por CLSI, (2012) (anteriormente NCCLS - National Committee for Clinical Laboratories Standars) e a preparação do inoculo foi feita pelo método de crescimento em caldo Mueller Hinton utilizando cepa de referência *E. coli* ATCC 25922 para controle na qualidade de execução e confiabilidade dos resultados obtidos.

Posterior à incubação, cada uma das culturas em caldo foi inoculada individualmente em placa de Petri (150 x 20 mm) contendo o meio ágar Mueller Hinton. O procedimento consiste em mergulhar um suabe de algodão estéril na suspensão, em ate 15 min após atingir o grau de turbidez. Foi eliminado o excesso de inoculo no suabe e distribuído o restante em toda a superfície da placa.

Foram utilizados os seguintes antibióticos com as respectivas concentrações, Meropenem - 10µg, Sulfonamida - 300µg, Enrofloxacin - 5µg, Doxiciclina - 30µg, Ciprofloxacina - 5µg, Tetraciclina - 30µg, Penicilina G - 10U, Ceftioflur - 30µg,

Trimethoprim + Sulfametoxazol - 1,25/23,75 $\mu$ g, Gentamicina - 10 $\mu$ g, Florfenicol - 30 $\mu$ g, Cloranfenicol - 30 $\mu$ g, Amoxicilina + Ácido Clavulânico - 20/10 $\mu$ g. Ao termino, as placas foram invertidas e incubadas em uma estufa a 37°C ate a leitura em 24 horas.

A obtenção dos resultados foi pela mensuração do diâmetro dos halos de inibição formado (incluindo o diâmetro do disco) em milímetro, com auxilio de um paquímetro. As amostras foram classificadas em sensíveis, intermediarias ou resistentes aos antibióticos testados, de acordo com a tabela proposta pelo fabricante (Laborclin, Bio-Rad), para efeito de resultados, consideraram-se apenas as categorias sensíveis e resistentes, nesta última, contabilizaram-se os resultados de intermediários e resistentes. A eficácia (sensibilidade) dos antibióticos baseou-se no critério adotado por Salehi; Bonab (2006), Saberfar et al. (2008), Sahoo et al. (2012), Rahimi (2013) para que um antibiótico seja eficiente deve apresentar a frequência mínima do antibiograma a partir 70%.

Para a interpretação foi utilizado análise estatística dos dados realizando a análise bivariada, na qual foi feito cruzamento das variáveis independentes, isto é, as variáveis referentes à amostra e a unidade federativa. A significância estatística das associações foi calculada através do teste do Qui-Quadrado ( $X^2$ ), com correção de Yates, ou teste exato de Fischer nos casos em que a amostra era pequena. Utilizou-se o programa estatístico Epi-info versão, 3.5, as associações foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando analisado o perfil de sensibilidade de grupos de antibióticos (Tabela 1), observou-se que a maioria das amostras foram sensíveis, com maior destaque ao grupo das Pleuromutilinas (93%), seguidos dos Aminoglicosídeos (88%) e Quinolonas/Fluoroquinolonas (77%). No entanto, observou-se dentro de um mesmo grupo há diferentes respostas aos antibióticos.

**Tabela 1.** Frequência de susceptibilidade antimicrobiana de 130 estirpes de *Escherichia coli* isoladas de trato respiratório superior e vísceras condenadas com suspeitas clínicas de colibacilose oriunda de aves abatidas sob inspeção no Estado do Tocantins entre agosto de 2010 a junho de 2012.

Grupos	Sensível		Resistente	
	N <sup>o1</sup>	(%) <sup>2</sup>	N <sup>o1</sup>	(%) <sup>2</sup>
<b>β-Lactamicos</b>				
Meropenem	129	99,24	1	0,76
Amoxicilina + Ácido Clavulânico	114	87,69	16	12,31
Ceftioflur	109	83,84	21	16,19
Penicilina G	1	0,77	129	99,23
<b>Sulfonamidas</b>				
Trimethoprim + Sulfametoxazol	106	81,54	24	18,46
Sulfonamida	61	46,92	69	53,08
<b>Tetraciclina</b>				
Doxiciclina	73	56,15	57	43,85
Tetraciclina	62	47,69	68	52,31
<b>Pleuromutilinas</b>				
Florfenicol	122	93,85	8	6,15
Cloranfenicol	121	93,07	9	6,93
<b>Quinolonas e Fluoroquinolonas</b>				
Ciprofloxacina	113	86,93	17	13,07
Enrofloxacina	87	66,93	43	33,07
<b>Aminoglicosídeos</b>				
Gentamicina	114	87,69	16	12,31

\* 1, numero de estirpes Sensível e Resistente; 2, Frequência encontrada de Sensível e Resistencia.

Uma possível explicação para o desempenho apresentado pelas Pleuromutilinas pode ser a alta eficiência do Cloranfenicol (93,1%), uma vez que seu uso é proibido na medicina veterinária, segundo instrução normativa (IN) N° 9 de 23 de junho de 2003. Contudo, Momtaz; Jamshidi (2013) ao analisar estirpes de *Escherichia coli* provenientes de carne de frango coletadas em cinco municípios do Irã, verificaram alta resistência (77%) a este

antibiótico, revelando que o uso indiscriminado do Cloranfenicol para tratamento de animais, uma vez que o mesmo pode resultar no surgimento de cepas resistentes.

A Gentamicina foi o fármaco de escolha para representar os Aminoglicosídeos, a mesma apresentou 87,7% de sensibilidade sendo um antibiótico extensivamente utilizado na criação de animais, devido a sua acessibilidade e preço baixo, permanecendo portanto como uma alternativa do tratamento de infecções bacterianas.

As Quinolonas / Fluoroquinolonas, representada pela Ciprofloxacina (86,9%) e Enrofloxacina (66,9%) se caracterizam geralmente por uma boa atividade antimicrobiana, inclusive contra microrganismos poucos susceptíveis ao grupo estudado, sendo fármacos de primeira escolha no tratamento de aves e muito utilizados na terapêutica veterinária, porém, verifica-se que a atividade da Enrofloxacina já apresenta-se comprometida.

O uso dos  $\beta$ -Lactâmicos na criação animal requer bastante atenção, uma vez que, seus constituintes foram utilizados extensivamente na medicina veterinária. Dessa forma, é comumente esperada uma alta resistência, como a encontrada para Penicilina G (99,23%). No presente estudo, a alta sensibilidade observada ao componente Meropenem pode ser explicada pela pouca ou baixa disponibilidade para uso em Medicina Veterinária.

O Meropenem é um antibiótico carbapenêmico pertencem ao grupo de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos nos quais o átomo de enxofre no anel tiazolidínico da molécula de penicilina é substituído por um átomo de carbono. O meropenem sempre é indicado como uma alternativa terapêutica de última escolha em casos de infecções graves provocadas por bactérias Gram-negativas resistentes a outros antibióticos. Os carbapenêmicos formam um dos principais conjuntos terapêuticos de amplo espectro contra infecções causadas por bactérias Gram-negativas, como as Enterobacteriaceae e os bacilos Gram-negativos não fermentadores da lactose (SHA, 2008). Assim, este princípio, devido suas peculiaridades e sua pouca disponibilidade no mercado, tem contribuído para os dados apresentados contribuiu para elevar a sensibilidade do grupo dos  $\beta$ -lactâmicos (67,88%).

Outro aspecto relacionado ao bom desempenho dos  $\beta$ -lactâmicos, pode ser devido à associação da amoxicilina ao ácido clavulânico (87,7%) que impede a formação da enzima lactamase, impedindo a quebra do anel, e assim conferindo eficiência do fármaco. Ademais, pode-se acrescentar os resultados de sensibilidade apresentados pelo Ceftioflur (83,8%), que é uma cefalosporina de 3ª geração. Segundo Oliveira (2010), quanto maior a geração, maior seu espectro de atuação.

Os antibióticos pertencentes ao grupo das Sulfonamidas também foram avaliados, uma vez que é grande o seu uso na medicina veterinária e a sensibilidade observada foi baixa

(46,9%). Os derivados deste grupo durante muito tempo foram utilizados como promotores de crescimento na avicultura e, de certa forma, contribuíram para o aparecimento de resistência a esses fármacos.

No entanto com a publicação da portaria nº 193 de 1998 do MAPA houve a proibição do uso deste fármaco como promotor de crescimento em aves. O conjugado Trimethoprim + Sulfametoxazol obteve sensibilidade de 81,5%, essa eficiência é dada pelo sinergismo dos dois fármacos, ampliação do espectro e soma da performance.

Os resultados do grupo das tetraciclina foi o menos eficiente onde a Doxiciclina, e a Tetraciclina, apresentaram sensibilidade menor que 60%. Atualmente tem diminuído a utilização destes antibióticos na terapêutica de aves, em virtude do aumento da resistência microbiana a esses fármacos. Relatos de Brito et al. (2011) corroboram com esses resultados, onde verificou resistência aos antimicrobianos Enrofloxacin (62%), Tetraciclina (21%), Doxiciclina (4%) e Sulfonamida (46%) ao analisar em *E. coli* isoladas de lesões de celulite de frangos de corte oriundo de criações do Paraná.

Quanto a susceptibilidade das amostras por estado de origem (Tabela 2), observou-se que 76% das estipes proveniente do estado do Goiás (GO) foram sensíveis aos antibióticos testados, o estado do Tocantins apresentou 72% de sensibilidade e as demais localidades, Distrito Federal (DF) e São Paulo (SP) apresentaram 65% e 62% respectivamente aos antibióticos analisados. Diferenças estáticas significativas foram encontradas nas frequências observadas nas amostras provenientes de SP e DF em relação às amostras do TO e GO ( $p < 0,001$ ). Esses resultados podem ser explicados pela própria diferença regional, manejo, mercados, clima e a própria característica filogenética individual das estipes de *E. coli*.

**Tabela 2.** Susceptibilidade a diferentes antibióticos obtidos a partir da média de estirpes de *E. coli* isoladas de vísceras, trato aéreo superior de aves condenadas oriundas dos estados do Distrito Federal, Goiás, São Paulo e Tocantins, abatidas sob inspeção Federal entre agosto de 2010 a junho de 2012.

	DF		GO		SP		TO	
	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>
<b>MEM</b>	27 (100%)	0 (0%)	66 (100%)	0 (0%)	11 (92%)	1 (8%)	25 (100%)	0 (0%)
<b>DOX</b>	9 (33%)	18 (67%)	40 (61%)	26 (39%)	5 (42%)	7 (58%)	19 (76%)	6 (24%)
<b>CTF</b>	24 (89%)	3 (11%)	59 (89%)	7 (11%)	8 (67%)	4 (33%)	18 (72%)	7 (28%)
<b>FLF</b>	26 (96%)	1 (4%)	63 (95%)	3 (5%)	12 (100%)	0 (0%)	21 (84%)	4 (16%)
<b>PEN</b>	1 (4%)	26 (96%)	0 (0%)	66 (100%)	0 (0%)	12 (100%)	0 (0%)	25 (100%)
<b>CIP</b>	20 (74%)	7 (26%)	61 (92%)	5 (8%)	10 (83%)	2 (17%)	22 (88%)	3 (12%)
<b>TET</b>	9 (33%)	18 (67%)	32 (48%)	34 (52%)	4 (33%)	8 (67%)	17 (68%)	8 (32%)
<b>ENR</b>	14 (52%)	13 (48%)	54 (82%)	12 (18%)	4 (33%)	8 (67%)	15 (60%)	10 (40%)
<b>CLO</b>	24 (89%)	3 (11%)	62 (94%)	4 (6%)	12 (100%)	0 (0%)	23 (92%)	2 (8%)
<b>SXT</b>	21 (78%)	6 (22%)	57 (86%)	9 (14%)	7 (58%)	5 (42%)	21 (84%)	4 (16%)
<b>SSS</b>	10 (37%)	17 (63%)	37 (56%)	29 (44%)	2 (17%)	10 (83%)	12 (48%)	13 (52%)
<b>GEN</b>	19 (70%)	8 (30%)	62 (94%)	4 (6%)	11 (92%)	1 (8%)	22 (88%)	3 (12%)
<b>AMC</b>	25 (93%)	2 (7%)	60 (91%)	6 (9%)	10 (83%)	2 (17%)	19 (76%)	6 (24%)
<b>Total<sup>3</sup></b>	<b>229 (65%)</b>	<b>122 (35%)</b>	<b>653(76%)</b>	<b>205 (24%)</b>	<b>96(62%)</b>	<b>60 (38%)</b>	<b>234 (72%)</b>	<b>91 (28%)</b>

\*1. Número de cepas, sensíveis ou resistentes em cada origem de isolamento; 2. Porcentagem calculada em relação às frequências examinadas em cada origem de isolamento; 3. Porcentagem calculada em relação ao total de cepas analisadas; DF, Distrito Federal; GO, Goiás; SP, São Paulo; TO, Tocantins; MEM, Meropenem; DOX, Doxiciclina; CTF, Ceftioflur; FLF, Florfenicol; PEN, Penicilina G; CIP, Ciprofloxacina; TET, Tetraciclina; ENR, Enrofloxacin; CLO, Cloranfenicol; STX, Trimethoprim + Sulfametoxazol; SSS, Sulfonamida; GEN, Gentamicina; AMC, Amoxicilina + Ácido Clavulânico.

Analisando os dados da tabela 2, verificou-se que as amostras coletadas de aves oriundas do estado de SP apresentaram o maior índice de resistência Ceftioflur (33%), Penicilina (100%), Tetraciclina (67%), Enrofloxacin (67%) e Trimethoprim + Sulfametoxazol (42%) seguido do DF.

Em relação aos estados do GO e TO o perfil de sensibilidade não se altera muito em relação aos demais estados, no entanto, a Doxiciclina ( $p=0,012$ ) e a Enrofloxacin ( $p=0,004$ ) mostraram se eficiente esses estados em relação aos demais, sugerindo que o uso destes antibióticos ainda é recomendado nos respectivos estados.

Ao analisar os resultados pelas amostras clínicas de coração, fígado e suabes do trato respiratório, proposta na tabela 3, a sensibilidade relativa encontrada foi de 65%, 74% e 74% respectivamente. Essa diferença é dada pela própria capacidade individual de difusão dos

fármacos, tempo de ação no organismo ou mesmo a capacidade de metabolizar o princípio ativo, conforme CLSI (2012).

**Tabela 3.** Susceptibilidade a diferentes antibióticos obtidos a partir da média de estirpes de *E. coli* isoladas de vísceras e trato aéreo superior de aves condenadas e abatidas sob inspeção Federal entre agosto de 2010 a junho de 2012.

	Coração		Fígado		Suabe	
	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>
<b>MEM</b>	32 (100%)	0 (0%)	29 (97%)	1 (3%)	68 (100%)	0 (0%)
<b>DOX</b>	13 (41%)	19 (59%)	14 (47%)	16 (53%)	46 (68%)	22 (32%)
<b>CTF</b>	27 (84%)	5 (16%)	28 (93%)	2 (7%)	54 (79%)	14 (21%)
<b>FLF</b>	30 (94%)	2 (6%)	30 (100%)	0 (0%)	62 (91%)	6 (9%)
<b>PEN</b>	0 (0%)	32 (100%)	1 (3%)	29 (97%)	0 (0%)	68 (100%)
<b>CIP</b>	24 (75%)	8 (25%)	27 (90%)	3 (10%)	62 (91%)	6 (9%)
<b>TET</b>	12 (37%)	20 (63%)	12 (40%)	18 (60%)	38 (56%)	30 (44%)
<b>ENR</b>	18 (56%)	14 (44%)	19 (63%)	11 (37%)	50 (74%)	18 (26%)
<b>CLO</b>	29 (91%)	3 (9%)	29 (97%)	1 (3%)	63 (93%)	5 (7%)
<b>SXT</b>	23 (72%)	9 (28%)	25 (83%)	5 (17%)	58 (85%)	10 (15%)
<b>SSS</b>	12 (37%)	20 (63%)	18 (60%)	12 (40%)	31 (46%)	37 (54%)
<b>GEN</b>	22 (69%)	10 (31%)	29 (97%)	1 (3%)	63 (93%)	5 (7%)
<b>AMC</b>	28 (88%)	4 (13%)	26 (87%)	4 (13%)	60 (88%)	8 (12%)
<b>Total<sup>3</sup></b>	<b>270 (65%)</b>	<b>146 (35%)</b>	<b>287 (74%)</b>	<b>103 (26%)</b>	<b>655 (74%)</b>	<b>229 (26%)</b>

\*1. Número de cepas, sensíveis ou resistentes em cada origem de isolamento; 2. Porcentagem calculada em relação às frequências totais examinados em cada origem de isolamento; 3. Porcentagem calculada em relação ao total de cepas analisadas; DF, Distrito Federal; GO, Goiás; SP, São Paulo; TO, Tocantins; MEM, Meropenem; DOX, Doxiciclina; CTF, Ceftioflur; FLF, Florfenicol; PEN, Penicilina G; CIP, Ciprofloxacina; TET, Tetraciclina; ENR, Enrofloxacina; CLO, Cloranfenicol; STX, Trimethoprim + Sulfametoxazol; SSS, Sulfonamida; GEN, Gentamicina; AMC, Amoxicilina + Ácido Clavulânico.

O fígado e coração são vísceras bastante comercializadas em supermercados, açougues e similares com vistas ao fornecimento de carne. Por se trata de um produto destinado ao consumo humano, torna-se importante à avaliação microbiológica e o conhecimento do processo de resistência microbiana das cepas isoladas destes produtos.

Nas amostras de fígado e coração, o Meropenem, Ceftioflur, Florfenicol, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Trimethoprim + Sulfametoxazol, Gentamicina e Amoxicilina + Ácido Clavulânico, apresentaram o melhor desempenho de sensibilidade a amostras testadas de fígado e suabe de trato aéreo superior. Contudo os valores apresentado pelas amostras de coração frente à Gentamicina, encontraram-se muito próximo de 70%, sugerindo a eficiência do produto, ao analisar o fármaco pela estatística, foi observado efeito significativo da Gentamicina ( $p=0,002$ ) sobre as amostras do coração.

Os resultados dos suabes de trato aéreo superior são similares aos encontrados para as amostra de fígado e coração, diferenciando apenas quanto a Enrofloxacina, que apresentou sensibilidade de 74%.

Com base nas tabelas anteriores, pode se observar uma grande variação no perfil de sensibilidade, seja pela procedência da amostra ou a origem das estipes. Em parte essa grande variação pode ser explicada pela heterogeneidade dos sistemas de produção adotado no Brasil, clima, manejo e características de mercado (ABOKLAISH et al., 2014; HSU et al., 2014; OLTRAMARI et al., 2012). Entretanto, existe uma variação normal filogenética de estipes de *E. coli*, que podem ser resistente a um tipo de antibióticos, ou mesmo a um grupo de antibióticos, pois independente do princípio ativo dos fármacos, o mecanismo de ação exercido pelos grupos são os mesmos (DENS, 2003; HAMMERUM; LESTER; HEUER, 2010).

Outro aspecto a ser considerado, é a utilização indiscriminada de antibióticos, que favorece a presença de resistência a antimicrobianos (MOTA et al., 2005). Ademais, um dos maiores desafios na produção animal atual é a busca de alternativas para se reduzir o uso de antimicrobianos como promotores de crescimento em rações, principalmente em consequência das crescentes pressões impostas por legislações de países que importam produtos de origem animal do Brasil, que proíbem a inclusão de antimicrobianos nas dietas de frangos de corte (MEDEIROS, 2009).

Avaliar o perfil de resistência se torna importante em virtude dos fármacos utilizados na medicina humana pertencerem as mesmas classes de fármacos utilizados em animais, desencadeando preocupações para saúde, como propostos por Ewers et al. (2009) ao estudarem 367 estirpes de *E. coli*, relatam a importância deste agente no setor avícola, e sua capacidade de colonizar o trato gastrointestinal e vísceras, além da grande concentração de estipes patogênica no intestino de frangos, e sua capacidade de disseminação de aves para humanos ou vice-versa.

Pelos resultados observou-se que 30,76% das estipes isoladas apresentaram multirresistência aos antimicrobianos testados. Pode se observar, que as oriundas do estado de Goiás apresentou maior percentual de multirresistência (15,10%). Apesar de não haver diferença estatística entre os estados, merece destaque o Distrito Federal, uma vez que foi o único a apresentar resistência a nove (0,28%) e onze (0,28%) antimicrobianos. Estes resultados demonstram que dentro da produção avícola, apesar de existir um controle sobre a utilização de antibióticos, se faz necessário um acompanhamento dos resultados da terapêutica utilizada na produção. Em parte, isto pode ser explicado pela grande contribuição

da avicultura no mercado internacional, uma vez que houve um crescente aumento do setor na exportação de carne do Brasil.

Lima-Filho et al. 2013 ao avaliando estirpes de *E. coli* obtidas de frangos, observaram multirresistência a no mínimo 4 antibióticos testados em 40,7% e as amostras que foram resistentes a 8 e 11 antibióticos representaram 22,2%. A resistência microbiana de estirpes de *E. coli* nos estados do Brasil, pode variar drasticamente, a partir da pressão imposta pelo uso abusivo de antibióticos em determinada localidade, portanto resultados sugere-se uma avaliação particular do uso de antibióticos dentro das unidades federativas.

## 4. CONCLUSÃO

Nas condições experimentais deste trabalho, entre os antibióticos testados, seis foram indicados para tratamento de *Escherichia coli* em frangos, Ceftioflur, Florfenicol, Ciprofloxacina, Trimethoprim + Sulfametoxazol, Gentamicina, Amoxicilina + Ácido Clavulânico. Estes resultados reforçam a importância dos testes de identificação de bactérias e o uso correto dos antibióticos, pois o uso indiscriminado dos mesmos pode resultar no aparecimento de cepas bacterianas multirresistentes, dificultando o tratamento de animais com infecção primária ou secundária por *E. coli*.

Pelos dados apresentados nesse estudo à utilização de antibióticos ainda não se tornou um problema dentro da avicultura nos respectivos estados, uma vez que os antibióticos testados foram em sua maioria eficientes sobre *E. coli*. No entanto não se deve fechar os olhos a essa situação uma vez que o perfil de resistência microbiana é mutável desta forma é importante estudos periódicos sobre o padrão antimicrobiano da *Escherichia coli* nas regiões de interesse, pois a susceptibilidade pode variar a partir da pressão dos antibióticos utilizados.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado do Tocantins (SECT-TO) por disponibilizar recursos financeiros e a Universidade Federal do Tocantins pela disponibilização de infraestrutura para realização do projeto.

## REFERÊNCIAS

- AGROSTAT - **AgroStat Brasil**, 2015. Disponível em <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROSTAT.html>>. Acesso em: 23 ago. 2015.
- BÉLANGER, L. et al. *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.62, n.1, p.1-10, 2011.
- LIMA-FILHO, J. V. et al. Zoonotic potential of multidrug-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* obtained from healthy poultry carcasses in Salvador, Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 54-61, 2013.
- MEDEIROS, P.T. et al. Efeito de promotores de crescimento alternativos no desempenho e no custo de produção de frangos de corte. **Biotemas**, v. 22, p. 157-163, 2009.
- OLTRAMARI, K. et al. Resistência a Antimicrobianos em *Escherichia coli* isolada de leite pasteurizado. **Revista Tecnológica**, p. 75-82, 2012.
- DENS, F. W. An alternative for antibiotic se in poultry: probiotics. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, n. 2, p. 75-97, 2003.
- MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.
- HAMMERUM, ANETTE M; LESTER, CAMILLA H.; HEUER, Ole E. Antimicrobial-Resistant Enterococci in Animals and Meat: A Human Health Hazard? **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 7, n. 10, p. 1137-1146, 2010.
- BRITO, B. et al. Resistência antimicrobiana e patogenicidade de amostras de *escherichia coli* isoladas de lesões de celulite em frangos. In. XXII CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE AVICULTURA, Buenos Aires – Argentina, **Congresso...** Cepa, 2011.
- CÁRDENAS-PEREA, M. E. et al. Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. **Elementos**, v.21, n.94, p.35-43, 2014.
- CHANSIRIPORNCHAI, N. Antimicrobial Sensitivity of Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) Isolated from Chickens During 2007-2010. **Thai Journal of Veterinary Medicine**, v.41, n.4, p.519-522, 2011.
- CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement**. M100-S22, v.32, n.3, 2012.
- DHEILLY, A. L. et al. Antimicrobial resistance selection in avian pathogenic *E. coli* during treatment. **Veterinary Microbiology**, v.166, n.3-4, p.655-658, 2013.
- EWERS, C. et al. Intestine and Environment of the Chicken as Reservoirs for Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Strains with Zoonotic Potential. **Applied and Environmental Microbiology**, v.75, n.1, n.184-192, 2009.

FIorentino, G. et al. **As Oito Grandes Tendências de Crescimento Até 2020**, [S.l]: Equipe Editorial Global p. 01-54, 2012:

KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, v.1, p.964, 1984.

MENIN, Á. et al. Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp, **Ciência Rural**, v.38, n.6, p.687-693, 2008.

MOMTAZ, H.; JAMSHIDI, A. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from chicken meat in Iran: Serogroups, virulence factors, and antimicrobial resistance properties. **Poultry science**, v.92, n.5, p.1305-1313, 2013.

OLIVEIRA, Maria João Chaves Pereira de. **Estudo de resistência da bactéria *Escherichia coli* a antibióticos em infecções urinárias na população da Região Autónoma da Madeira**. 2010. 64f. Dissertação (Mestrado), Universidade da Madeira, Funchal, 2010. Disponível em < <http://repositorio.uma.pt/handle/10400.13/586> >. Acesso em: 24 fev. 2015.

RAHIMI, Morad. Antibioresistance Profile of Avian pathogenic *Escherichia coli* Isolates Recovered from Broiler Chicken Farms with Colibacillosis in Kermanshah Province, Iran. **Global Veterinaria**, v. 10, n. 4, p. 447-452, 2013.

RIBEIRO, M. et al. Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.724-731, 2006.

ROCHA, Tatiane Martins; **Fatores de virulência de *Escherichia coli* patogênica para aves**. 2010. f31. Tese - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010. Disponível em <[http://portais.ufg.br/uploads/67/original\\_Tatiane\\_Rocha\\_1c.pdf](http://portais.ufg.br/uploads/67/original_Tatiane_Rocha_1c.pdf)>. Acesso em: 22 mar. 2014.

SABERFAR, E. et al. Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from Iranian Broiler Chicken Flocks, 2005–2006. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 17, n. 2, p. 302-304, 2008.

SAHOO, T. K. et al. Prevalence, Isolation, Characterisation and Antibiogram Study of Pathogenic *Escherichia coli* from Different Poultry Farms of Odisha. **Journal of Advanced Veterinary Research**, v.2, p.169-172, 2012.

SALEHI, T. Zahraei; BONAB, S. Farashi Antibiotics Susceptibility Pattern of *Escherichia coli* Strains Isolated from Chickens with Colisepticemia in Tabriz Province, Iran. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 7, p. 677-684, 2006.

SHAH, P. M. Parenteral carbapenems. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 14, n. 11, p. 175-180, 2008.

WEBER, T. et al. Metabolic engineering of antibiotic factories: new tools for antibiotic production in actinomycetes. **Trends in Biotechnology**, v.33, n.1, p.15-26, 2015.

## **CAPÍTULO III**

**Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do trato aéreo superior e vísceras comestíveis de aves abatidas sob inspeção no Estado do Tocantins.**

**Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do trato aéreo superior e vísceras comestíveis de aves abatidas sob inspeção no Estado do Tocantins.**

**ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROFILE OF *ESCHERICHIA COLI* ISOLATED FROM UPPER AIRWAY TRACT AND EATABLE VISCERA OF SLAUGHTERED POULTRY UNDER INSPECTION IN TOCANTINS STATE.**

**Resumo:** O objetivo dessa pesquisa foi verificar o perfil de resistência microbiana de isoladas de vísceras e suabes de traqueia e fenda palatina de aves abatidas sob inspeção no Estado do Tocantins e destinadas ao consumo. Foram avaliadas a resistência de 80 estipes de *E. coli* oriundas de 200 aves comerciais abatidas em frigorífico industrial localizado no Tocantins, provenientes dos estados do Distrito Federal, Goiás, São Paulo e Tocantins, observou-se que 24,85% apresentaram multirresistência aos antimicrobianos testado. Em análise para cada unidade federativa, observou-se que o estado de Goiás apresentou maior percentual de multirresistência (6,59%), seguido do Distrito Federal (6,29%), São Paulo (6,04%) e o estado do Tocantins (5,92%). Na análise da resistência por grupo de antimicrobiano em *E. coli*, observou-se que a maioria das amostras apresentou resistência aos grupamentos produtores de beta-lactamicos (42,5%), sulfonamidas (38,7%) e tetraciclina (47,5%). Os percentuais de resistência aos antimicrobianos nas cepas analisadas alertam para uma condição de risco destacando sua importância e consequência para a saúde pública.

**Palavras-chave:** Saúde Publica. Estirpes. Multirresistência

**Abstract:** The objective of this research was to investigate the antimicrobial resistance profile isolated from offal and tracheal swabs and cleft poultry slaughtered under inspection in the State of Tocantins and intended for consumption. We assessed the resistance of 80 stems of *E. coli* derived from 200 commercial poultry slaughtered in industrial refrigerator located in Tocantins, from the states of Distrito Federal, Goiás, São Paulo and Tocantins, it was observed that 24.85% had multidrug resistance to antimicrobial tested. Under review for each state, it was observed that the state of Goias had a higher percentage of multidrug resistance (6.59%), followed by the Federal District (6.29%), São Paulo (6.04%) and the state Tocantins (5.92%). In the analysis of antimicrobial resistance group in *E. coli*, it was observed that most of the samples showed resistance to groups of beta-lactam producers (42.5%), sulfonamides (38.7%) and tetracycline (47.5 %). Resistance to antimicrobials in strains percentage analyzed warns of a risk factor highlighting its importance and consequence for public health.

**Key words:** Public Health. Strains. Multidrug Resistance.

## 1. INTRODUÇÃO

A produção brasileira de frango vem se tornando eficiente e de alta produtividade, com um sistema tecnológico avançado visando maior produtividade de proteína animal de origem avícola. A preocupação com os aspectos sanitários surge de forma exponencial, desta forma as evoluções nas pesquisas relacionadas à sanidade das aves devem acompanhar a evolução da indústria avícola, assim, garantindo um produto de qualidade à mesa do consumido (IBRAHIM et al., 2013).

A carne de frango vem ganhando destaque na alimentação humana, principalmente por ser um produto saudável e de baixo custo. Dessa forma, sua qualidade microbiológica e o estudo da incidência de microrganismos potencialmente patogênicos têm importância para a saúde pública (GILSING et al., 2012).

O significado de alimento de qualidade no ponto de vista do consumidor reflete a satisfação visual de um produto em perfeito estado, com características intrínsecas normais como sabor, aroma, aparência, embalagem, preço e disponibilidade favoráveis. No entanto, a segurança alimentar é negligenciada. O termo alimento seguro significa a garantia de consumo do mesmo no âmbito da saúde coletiva, refletindo em um produto livre de contaminantes de natureza química, física, biológica ou outras substância que possam colocar em risco a saúde. (TANSEY; RAJOTTE, 2008; LEVIN; BAQUERO; JOHNSEN, 2014).

No entanto, nas últimas décadas tem ocorrido um aumento expressivo do número de casos de doenças transmitidas por alimentos, o que torna sua contaminação um sério problema de saúde pública. Na carne de frango, por exemplo, são frequentemente isoladas bactérias como a *Escherichia coli*, possíveis causadoras de danos à saúde e de toxinfecções alimentares, como também relatos de multirresistência a antibióticos (JOHNSON et al., 2007; ESMERINO; PENTEADO, 2011).

A resistência antimicrobiana é um problema, com implicações graves no tratamento de animais e humanos. O desenvolvimento da resistência por certas bactérias patogênicas é mais rápido que a capacidade da indústria de produzir novos fármacos, muitas vezes, onerosa e com um período maior para metabolização, gerando resíduos que se mantem no organismo por um período prolongado (WEBER et al., 2015).

Na medicina humana e veterinária, antibióticos devem ser usados com moderação e apenas de forma direcionada para o tratamento de doenças. Porém, o uso indiscriminado, incorreto e como fonte preventiva, tem gerado bactérias resistentes. Existem inúmeros exemplos do aumento da resistência aos antimicrobianos em animais, sendo que muitos dos

microrganismos apresentam resistência aos antimicrobianos comum ao uso humano, o que é preocupante, pois as bactérias isoladas podem ser reservatório de genes resistentes, com papel na disseminação desta resistência às bactérias patogênicas ou comensais (SRINIVASANA et al., 2007).

Desta forma, o objetivo dessa pesquisa foi verificar o perfil de resistência microbiana de estipes isolados de vísceras e suabes trato aéreo superior (traqueia e fenda palatina) de aves abatidas sob inspeção no estado do Tocantins e destinadas ao consumo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram determinadas as sensibilidades de 80 estipes de *E. coli* isoladas de 200 amostras de fígado, coração e suabes de traqueia e fenda palatina (trato respiratório superior) de carcaça de aves comerciais provenientes dos estados do Distrito Federal, Goiás, São Paulo e Tocantins, abatidas sob sistema de inspeção federal, localizado no Tocantins e destinadas ao consumo, no período de agosto de 2010 a junho de 2012.

Suabes e fragmentos de órgãos foram inoculados em Caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubados a 37°C por 24 horas. Após incubação, o material foi inoculado em placa contendo ágar MacConkey, incubado a 37°C por 24 horas. As colônias com características típicas de *E. coli* foram confirmadas através de série bioquímica. A identificação e a conservação das estirpes procederam-se conforme a metodologia descrita por Krieg; Holt, (1984).

A partir das cepas de *E. coli* isoladas, as mesmas foram submetidas a avaliação quanto ao perfil de susceptibilidade a antimicrobianos, utilizando a técnica de disco difusão segundo as recomendações do CLSI (2012) (anteriormente NCCLS - National Committee for Clinical Laboratories Standards), e a preparação do inoculo foi feita pelo método de crescimento em caldo Mueller Hinton, utilizando cepa de referência *E. coli* ATCC 25922 para controle na qualidade de execução e confiabilidade dos resultados obtidos.

O procedimento consiste em mergulhar um suabe de algodão estéril na suspensão, em até 15 min após atingir o grau de turbidez de uma solução padrão de McFarland a 0,5 (aproximadamente  $10^8$  microrganismos/mL). Foi eliminado o excesso de inoculo no suabe e distribuído o restante em toda a superfície da placa.

Foram utilizados os seguintes antibióticos com as respectivas concentrações, Sulfonamida - 300µg, Enrofloxacin - 5µg, Doxiciclina - 30µg, Ciprofloxacina - 5µg, Tetraciclina - 30µg, Penicilina G - 10U, Ceftioflur - 30µg, Trimethoprim + Sulfametoxazol - 1,25/23,75µg, Gentamicina - 10µg, Florfenicol - 30µg, Cloranfenicol - 30µg, Amoxicilina + Ácido Clavulânico - 20/10µg. Ao término, as placas foram invertidas e incubadas em uma estufa a 37°C até a leitura em 24 horas.

As avaliações foram feitas pela mensuração do diâmetro dos halos de inibição formado em milímetro, com auxílio de um paquímetro. As amostras foram classificadas em sensíveis, intermediárias ou resistentes aos antibióticos testados de acordo com a tabela proposta pelo fabricante (Laborclin, Bio-Rad), para efeito de resultados, consideraram-se apenas as categorias sensíveis e resistentes, nesta última, contabilizaram-se os resultados de

intermediários e resistentes. A ineficácia (resistência) dos antibióticos baseou-se no critério adotado por (Salehi; Bonab (2006), Saberfar et al. (2008), Sahoo et al. (2012), Rahimi (2013) Rosa et al. (2015), para que um antibiótico seja ineficiente deve apresentar a frequência mínima do antibiograma ate 30%.

Para a interpretação foi utilizado análise estatística dos dados realizando a análise bivariada, na qual foi feito cruzamento das variáveis independentes, isto é, as variáveis referentes à amostra e a unidade federativa. A significância estatística das associações foi calculada através do teste do Qui-Quadrado ( $X^2$ ), com correção de Yates, ou teste exato de Fischer nos casos em que a amostra era pequena. Utilizou-se o programa estatístico Epi-info versão, 3.5, as associações foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise da resistência por grupo de antimicrobiano em *E. coli* (Tabela 1), observou-se que a maioria das amostras apresentou resistência aos grupamentos produtores de beta-lactamicos (57,08%), sulfonamidas (61,25%) e tetraciclinas (53,12%), sugerindo o caráter de multirresistência das amostras, e o grande perigo que proporcionam à saúde pública.

**Tabela 1.** Percentual de resistência antimicrobiana por grupos de 80 estirpes de *E. coli* isoladas de trato aéreo superior e vísceras de aves destinadas ao consumo e abatidas sob serviço inspeção no Estado do Tocantins entre agosto de 2010 a junho de 2012.

Grupos	Sensível		Resistente	
	N <sup>o1</sup>	(%) <sup>2</sup>	N <sup>o1</sup>	(%) <sup>2</sup>
<b>β-Lactamicos</b>	137	57,08	103	42,92
Amoxicilina + Ácido Clavulânico	69	86,25	11	13,75
Ceftioflur	65	81,25	15	18,75
Penicilina G	3	3,75	77	96,25
<b>Sulfonamidas</b>	98	61,25	62	38,75
Trimethoprim + Sulfametoxazol	60	75	20	25
Sulfonamida	38	47,5	42	52,5
<b>Tetraciclinas</b>	85	53,12	75	46,88
Doxiciclina	45	56,25	35	43,75
Tetraciclina	40	50	40	50
<b>Pleuromutilinas</b>	151	94,37	9	5,63
Florfenicol	75	93,75	5	6,25
Cloranfenicol	76	95	4	5
<b>Quinolonas e Fluoroquinolonas</b>	126	78,75	34	21,25
Ciprofloxacina	73	91,25	7	8,75
Enrofloxacina	53	66,25	27	33,75
<b>Aminoglicosídeos</b>	73	78,75	7	21,25
Gentamicina	73	91,25	7	08,75

\*1. Número de cepas, sensíveis ou resistentes em cada origem de isolamento; 2. Porcentagem calculada em relação às frequências totais examinados em cada origem de isolamento

Os antimicrobianos testados representam classes de medicamentos importantes para a terapêutica na medicina humana e veterinária. A proporção de bactérias resistentes, mesmo em pequena quantidade, sugere problemas de uso dos antibióticos na produção de aves, e que possivelmente pode causar riscos à saúde pública, pois os antibióticos utilizados na medicina humana pertencem a mesmas classes dos antimicrobianos utilizados em animais.

Dentre todos os antibióticos testados, a penicilina G foi o antimicrobiano com maior perfil de resistência (96,25%), revelando a ineficácia deste medicamento no combate à

infecção por *E. coli*, Sarkar; Roy; Batabyal (2013) ao analisarem 162 amostras de *E. coli* isoladas do trato gastrointestinal de frangos, também encontraram um alto percentual de resistência para penicilina G (88,9%).

Uma possível explicação para este fato pode ser devido a sua utilização incorreta, com finalidades terapêuticas, profiláticas, promotores de crescimento e o uso errôneo da penicilina G, pois a mesma atua principalmente sobre bactérias Gram positiva. Dessa forma, essas bactérias resistentes podem ser transferidas de animais para seres humanos, tornando-se um risco à saúde pública, visto que os antibióticos  $\beta$ -Lactâmicos são muito usados para tratamento de infecções em humanos

Dentre as amostras analisadas, verificou-se uma resistência aos antimicrobianos pertencente a sulfonamidas e tetraciclinas com níveis de resistência de 52,5% e 50%, respectivamente. Estes resultados são corroborados pelos achados de Tadesse et al. (2012), nos Estados Unidos, trabalhando com amostras de *E. coli* provenientes de material humano, animal e produtos de origem animal, que observaram resistência a tetraciclina (40,9%), sulfonamida (36,2%) e ampicilina (24,1%).

Segundo Bean; Livermore; Hall (2009), a resistência a sulfonamida é geralmente associada a elementos gênicos móveis, que possuem um papel fundamental na disseminação de genes de multirresistência em *E. coli*. No presente estudo observou-se que as estirpes de *E. coli* isoladas, apresentaram resistência a todos os antibióticos testados, variando de um a onze antibióticos combinados.

As estirpes de *E. coli* isoladas, demonstraram resistência a Doxiciclina (43,75%) e Enrofloxacina (33,75%), Korb et al. (2015) relataram resultados semelhantes ao do presente estudo ao analisarem amostras de *E. coli* isoladas de fezes de frango comercial em Curitiba no Paraná, observando elevado perfil de resistência a Enrofloxacina (63%) e Tetraciclina (85%). Embora esses achados sejam superiores aos do presente estudo, essa disparidade pode ser explicada pela diferença regional e uma possível pressão de seleção no uso de antibióticos nessa região.

De acordo com Ahmed; Shimabukuro; Shimamoto (2009), estirpes de *E. coli* multirresistentes são de grande importância clínica, pois as fluorquinolonas e cefalosporinas são considerados medicamentos de primeira escolha para o tratamento de infecções em humanos, e o desenvolvimento de resistência a estes antibióticos pode resultar na inutilização destes no tratamentos de algumas infecções.

Dentre as amostras estudadas, observou-se que 26,72% apresentaram multirresistência aos antimicrobianos testados. Esse resultado pode ser considerado baixo, demonstrando que as

ações de intervenção, fiscalização e proibição quanto ao uso de antibióticos tem sortido efeito positivo na produção avícola. Esse aspecto é relevante quando se considera a crescente contribuição da avicultura de corte no produto interno bruto e comércio de exportação de carnes do Brasil (FIORENTINO et al., 2012), uma vez que, para sua participação neste cenário, alguns mercados consumidores fazem restrição ao uso de antibióticos.

Em análise para cada unidade federativa, observou-se que o estado de Goiás apresentou maior percentual de multirresistência (6,94%), seguido do Distrito Federal (6,82%), São Paulo (6,55%) e o estado do Tocantins (6,41%). Apesar de não haver diferença estatística entre os estados, merece destaque o estado de Goiás que foi o único a apresentar resistência a 11 antimicrobianos. Uma possível explicação para essa situação pode estar relacionada à localização geográfica do estado, que se encontra em um polo industrial produtor de cereais (soja e milho), localizado em uma região central do país e cortado pela principal rodovia que liga o Norte ao Sudeste do país.

A indústria avícola brasileira tem evoluído bastante, utilizando-se de tecnologias modernas, no entanto, implicam em uma dependência cada vez maior, do uso de substâncias químicas durante as fases de produção do frango de corte. Porém, um fator preocupante é o surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos, ocasionando obstáculos aos procedimentos clínicos, aumentando os custos de tratamento e as doenças na população humana (LIMA; FILHO; PINTO, 2009)

Segundo Sosa et al. (2010) existe uma preocupação crescente sobre o fato de que a alimentação com antimicrobianos em dietas de animais, contribui para a formação de cúmulo de bactérias entéricas resistentes aos medicamentos, que são capazes de transferir essa resistência para bactérias patogênicas, causando risco à saúde pública.

Na tabela 2 estão sumarizados os resultados dos testes de sensibilidade de 80 estirpes de *Escherichia coli*, considerando-se a origem de isolamento (coração, fígado e carcaça), em que se obteve para as amostra de coração 35%, Fígado e Suabe de trato aéreo superior com 26% de resistência aos antimicrobianos testados. Quando testou-se o perfil de resistência entre as diferentes origem (coração, fígado e carcaça), não foi observada diferença estatística significativa.

**Tabela 2.** Susceptibilidade a diferentes antibióticos obtidos a partir da média de estirpes de *E. coli* isoladas de vísceras e trato aéreo superior de aves condenadas e abatidas sob inspeção Federal entre agosto de 2010 a junho de 2012.

	Coração		Fígado		Suabe	
	SEN	RES	SEN	RES	SEN	RES
<b>DOX</b>	19 (66%)	10 (34%)	9 (45%)	11 (55%)	17 (55%)	14 (45%)
<b>CTF</b>	25 (86%)	4 (14%)	15 (75%)	5 (25%)	25 (81%)	6 (19%)
<b>FLF</b>	28 (97%)	1 (3%)	17 (85%)	3 (15%)	30 (97%)	1 (3%)
<b>PEN</b>	2 (7%)	27 (93%)	1 (5%)	19 (95%)	0 (0%)	31 (100%)
<b>CIP</b>	27 (93%)	2 (7%)	17 (85%)	3 (15%)	29 (94%)	2 (6%)
<b>TET</b>	17 (59%)	12 (41%)	9 (45%)	11 (55%)	14 (45%)	17 (55%)
<b>ENR</b>	20 (69%)	9 (31%)	10 (50%)	10 (50%)	23 (74%)	8 (26%)
<b>CLO</b>	28 (97%)	1 (3%)	17 (85%)	3 (15%)	31 (100%)	0 (0%)
<b>SXT</b>	26 (90%)	3 (10%)	12 (60%)	8 (40%)	22 (71%)	9 (29%)
<b>SSS</b>	15 (52%)	14 (48%)	8 (40%)	12 (60%)	15 (48%)	16 (52%)
<b>GEN</b>	26 (90%)	3 (10%)	17 (85%)	3 (15%)	30 (97%)	1 (3%)
<b>AMC</b>	28 (97%)	1 (3%)	17 (85%)	3 (15%)	24 (77%)	7 (23%)
<b>Total</b>	261 (65%)	87 (35%)	149 (74%)	91 (26%)	260 (74%)	112 (26%)

\*1. Número de cepas, sensíveis ou resistentes em cada origem de isolamento; 2. Porcentagem calculada em relação às frequências totais examinados em cada origem de isolamento; 3. Porcentagem calculada em relação ao total de cepas analisadas; DF, Distrito Federal; GO, Goiás; SP, São Paulo; TO, Tocantins; MEM, Meropenem; DOX, Doxiciclina; CTF, Ceftioflur; FLF, Florfenicol; PEN, Penicilina G; CIP, Ciprofloxacina; TET, Tetraciclina; ENR, Enrofloxacina; CLO, Cloranfenicol; STX, Trimethoprim + Sulfametoxazol; SSS, Sulfonamida; GEN, Gentamicina; AMC, Amoxicilina + Ácido Clavulânico.

Analisando o perfil de resistência de cada antibiótico nas diferentes origens, pode se perceber que a Penicilina G, Tetraciclina e a Sulfonamida foram os antibióticos que apresentaram o maior índice de resistência, em que a Penicilina G obteve uma variação entre 93% a 100%, a tetraciclina variou entre 41% a 55% e a Sulfonamida obteve valores entre 48% a 60% entre as amostras analisadas. O presente resultado é explicado pelo fato de que os fármacos citados anteriormente, por muito tempo foram utilizados como promotores de crescimento na avicultura, e de certa forma contribuíram para o aparecimento de estipes resistentes a esses fármacos.

Utilizando o mesmo critério da tabela anterior, considerando a unidade federativa observou-se que o estado de SP (38%) e DF (35%) apresentaram os maiores percentuais de resistência aos antibióticos testados (Tabela 3). No entanto, em análise dentro de cada estado os antibióticos de maior resistência foram similares aos reportado na tabela anterior (Penicilina G, Tetraciclina e Sulfonamida), com uma pequena variação no estado do TO e DF, que apresentaram resistência aos antibióticos Enrofloxacina (TO) e Trimethoprim + Sulfametoxazol (DF), que se caracterizam como antibióticos de uso terapêutico.

Dessa forma, pode-se observar que as diferenças entre as unidades federativas em relação ao uso de antibióticos e seu perfil de resistência dependem da sazonalidade, região, do sorotipo, das características de mercado e da própria variação individual dos animais (GYLES, 2008).

**Tabela 3.** Susceptibilidade a diferentes antibióticos obtidos a partir de estirpes de *E. coli* isoladas de trato aéreo superior e vísceras de aves destinadas ao consumo oriundas do coração, fígado e carcaça abatidas sob inspeção Federal entre agosto de 2010 a junho de 2012.

	DF		GO		SP		TO	
	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	SEN <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>	RES <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>
<b>DOX</b>	6 (55%)	5 (45%)	22 (52%)	20 (48%)	8 (57%)	6 (43%)	9 (69%)	4 (31%)
<b>CTF</b>	9 (82%)	2 (18%)	34 (81%)	8 (19%)	13 (93%)	1 (7%)	9 (69%)	4 (31%)
<b>FLF</b>	11 (100%)	0 (0%)	39 (93%)	3 (7%)	13 (93%)	1 (7%)	12 (92%)	1 (8%)
<b>PEN</b>	0 (0%)	11 (100%)	2 (5%)	40 (95%)	0 (0%)	14 (100%)	1 (8%)	12 (92%)
<b>CIP</b>	11 (100%)	0 (0%)	38 (90%)	4 (10%)	14 (100%)	0 (0%)	10 (77%)	3 (23%)
<b>TET</b>	6 (55%)	5 (45%)	19 (45%)	23 (55%)	6 (43%)	8 (57%)	9 (69%)	4 (31%)
<b>ENR</b>	8 (73%)	3 (27%)	29 (69%)	13 (31%)	8 (57%)	6 (43%)	8 (62%)	5 (38%)
<b>CLO</b>	10 (91%)	1 (9%)	40 (95%)	2 (5%)	14 (100%)	0 (0%)	12 (92%)	1 (8%)
<b>SXT</b>	6 (55%)	5 (45%)	32 (76%)	10 (24%)	11 (79%)	3 (21%)	11 (85%)	2 (15%)
<b>SSS</b>	6 (55%)	5 (45%)	20 (48%)	22 (52%)	5 (36%)	9 (64%)	7 (54%)	6 (46%)
<b>GEN</b>	11 (100%)	0 (0%)	38 (90%)	4 (10%)	11 (79%)	3 (21%)	13 (100%)	0 (0%)
<b>AMC</b>	9 (82%)	2 (18%)	37 (88%)	5 (12%)	12 (86%)	2 (14%)	11 (85%)	2 (15%)
<b>Total<sup>3</sup></b>	93 (65%)	39 (35%)	350 (76%)	154 (24%)	115 (62%)	53 (38%)	112 (72%)	44 (28%)

\*1. Número de cepas, sensíveis ou resistentes em cada origem de isolamento; 2. Porcentagem calculada em relação às frequências totais examinados em cada origem de isolamento; 3. Porcentagem calculada em relação ao total de cepas analisadas; DF, Distrito Federal; GO, Goiás; SP, São Paulo; TO, Tocantins; DOX, Doxiciclina; CTF, Ceftioflur; FLF, Florfenicol; PEN, Penicilina G; CIP, Ciprofloxacina; TET, Tetraciclina; ENR, Enrofloxacin; CLO, Cloranfenicol; STX, Trimethoprim + Sulfametoxazol; SSS, Sulfonamida; GEN, Gentamicina; AMC, Amoxicilina + Ácido Clavulânico.

O uso de antimicrobiano de maneira excessiva e indiscriminada na produção animal tem sido apontado como uma das possíveis causas da emergência de linhagens bacterianas resistentes (HARAKEHA; YASSINEA; EL-FADEL, 2006; MACÊDO et al., 2007). Esse uso indiferenciado e constante pode interferir no tratamento efetivo das infecções por agentes bacterianos (FRANCO et al., 2010). Apesar de todo o monitoramento industrial com o propósito de garantir segurança alimentar, falta ainda um rigor nos procedimentos que garantam uma qualidade e segurança alimentar, diminuindo o risco de doenças transmitidas através do alimento.

Diversos autores compartilham a ideia que a *E. coli* é um dos patógenos transmitidos por alimentos que causam preocupação quanto a uma ligação entre animais e humanos, e assim causar uma infecção de difícil controle ao transferir genes de resistência de origem

animal aos microrganismos de origem humana. (LEVIN; BAQUERO; JOHNSEN, 2014; FRANZ et al., 2014; BÉLANGER et al., 2011; ABOKLAISH et al., 2014; HSU et al., 2014).

Os resultados apresentados nesta pesquisa podem ser explicados pelo uso amplo e indiscriminado dos antibióticos na medicina veterinária, sendo estes utilizados de forma errada e/ou com indicações incorretas que podem ter contribuído para a multirresistência.

## 4. CONCLUSÃO

Os percentuais de resistência aos antimicrobianos nas cepas analisadas alertam para uma condição de risco destacando sua importância e consequência para a saúde pública. Observou-se que a maioria das amostras apresentaram resistência aos grupamentos produtores de beta-lactâmicos (43%), sulfonamidas (39%) e tetraciclinas (47%), sugerindo o caráter de multirresistência das amostras. Da mesma forma, estes agrupamentos também foram resistentes quando analisado pelas unidades federativas e amostra clínicas.

Este fato enfatiza a necessidade de utilização prudente e criteriosa de antibióticos na produção animal, com rigor na fiscalização e monitoramento pelo serviço veterinário oficial, bem como, durante o processo de transformação e comercialização de produtos de origem animal para manutenção da segurança alimentar.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado do Tocantins (SECT-TO) por disponibilizar recursos financeiros e a Universidade Federal do Tocantins pela disponibilização de infraestrutura para realização do projeto.

## REFERÊNCIAS

ABOKLAISH, A. F. et al. Random insertion and gene disruption via transposon mutagenesis of *Ureaplasma parvum* using a mini-transposon plasmid. **International Journal of Medical Microbiology**, v.304, n.8, p.1218-1225, 2014.

AHMED, Ashraf M.; SHIMABUKURO, Hirofumi; SHIMAMOTO Tadashi. Isolation and Molecular Characterization of Multidrug-Resistant Strains of *Escherichia coli* and *Salmonella* from Retail Chicken Meat in Japan. **Journal of Food Science**, v.74, n.7, 2009.

BEAN, David C.; LIVERMORE, David M.; HALL, Lucinda M. C. Plasmids Imparting Sulfonamide Resistance in *Escherichia coli*: Implications for Persistence. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.53, n.3, p.1088-1093, 2009.

BÉLANGER, L. et al. *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.62, n.1, p.1-10, 2011.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement**. M100-S22, v.32, n.3, 2012.

ESMERINO, Luís Antônio; PENTEADO, Fernanda Rogenski. Avaliação da Qualidade Microbiológica da Carne de Frango Comercializada no Município de Ponta Grossa-Paraná. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v.17, n.1, p.37-45, 2011.

FIORENTINO, G. et al. **As Oito Grandes Tendências de Crescimento Até 2020**, [S.l]: Equipe Editorial Global p. 01-54, 2012:

FRANCO, R. M. et al. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos, **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.1, p.31-36, 2010.

FRANZ, E. et al. Exploiting the explosion of information associated with whole genome sequencing to tackle Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in global food production systems. **International Journal of Food Microbiology**, v.187, p.57-72, 2014.

GILSING, A. M. J. et al. Longitudinal Changes in BMI in Older Adults Are Associated with Meat Consumption Differentially, by Type of Meat Consumed. **The Journal of Nutrition**, v.142, n.2, p.340-349, 2012.

GYLES, Carlton. L. Antimicrobial resistance in selected bacteria from poultry. **Animal Health Research Reviews**, v. 9, n. 2, p. 149-58, 2008.

HARAKEHA, Steve; YASSINEA, Hadi; EL-FADEL, Mutasem. Antimicrobial-resistant patterns of *Escherichia coli* and *Salmonella* strains in the aquatic Lebanese environments. **Environmental Pollution**, v.143, n.2, p.269-277, 2006.

HSU, J. T. et al. Prevalence of sulfonamide-resistant bacteria, resistance genes and integron-associated horizontal gene transfer in natural water bodies and soils adjacent to a swine feedlot in northern Taiwan. **Journal of Hazardous Materials**, v.277, p.34-43, 2014.

- IBRAHIM, M. A. et al. Seroepidemiological Studies on Poultry Salmonellosis and its Public Health Importance. **Journal of World's Poult. Research.** v.3, n.1, p.18-23, 2013.
- JOHNSON, J. R. et al. Antimicrobial drug-resistant *Escherichia coli* from humans and poultry products, Minnesota and Wisconsin, 2002–2004. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 6, p. 838, 2007.
- KORB, A. et al. Tipagem molecular e resistência aos antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli* de frangos de corte e de tratadores na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.3, p.258-64, 2015.
- KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, v.1, p.964, 1984.
- LEVIN, Bruce R.; BAQUERO, Fernando; JOHNSEN, Pål J. A model-guided analysis and perspective on the evolution and epidemiology of antibiotic resistance and its future. **Current Opinion in Microbiology**, v.19, p.83-89, 2014.
- LIMA, EdnaTereza; FILHO, Raphael Lucio Andreatti; PINTO, José Paes de Almeida Nogueira. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* isolados de produtos avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, p. 394-400, v. 16, n. 2, 2009
- MACÊDO, N. R. et al. Detecção de cepas patogênicas pela PCR multiplex e avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de leitões diarréicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1117-1123, 2007.
- RAHIMI, Morad. Antibioresistance Profile of Avian pathogenic *Escherichia coli* Isolates Recovered from Broiler Chicken Farms with Colibacillosis in Kermanshah Province, Iran. **Global Veterinaria**, v. 10, n. 4, p. 447-452, 2013.
- ROSA, D. L. S. O. et al. Detecção de genes toxigênicos, susceptibilidade antimicrobiana e antagonismo in vitro de *Staphylococcus spp.* isolados de queijos artesanais. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 3, n. 1, p. 37-42, 2015.
- SABERFAR, E. Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from Iranian Broiler Chicken Flocks, 2005–2006. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 17, n. 2, p. 302-304, 2008.
- SAHOO, T. K. et al. Prevalence, Isolation, Characterisation and Antibiogram Study of Pathogenic *Escherichia coli* from Different Poultry Farms of Odisha. **Journal of Advanced Veterinary Research**, v.2, p.169-172, 2012.
- SALEHI, T. Zahraei; BONAB S. Farashi. Antibiotics Susceptibility Pattern of *Escherichia coli* Strains Isolated from Chickens with Colisepticemia in Tabriz Province, Iran. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 7, p. 677-684, 2006.
- SALEHI, T. Zahraei; BONAB, S. Farashi Antibiotics Susceptibility Pattern of *Escherichia coli* Strains Isolated from Chickens with Colisepticemia in Tabriz Province, Iran. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 7, p. 677-684, 2006.

SARKAR, M.; ROY, J.P.; BATABYAL, K. Characterization and Antibigram of Enteropathogenic *Escherichia coli* Isolated From Poultry. **Exploratory Animal and Medical Research**, v.3, n.2, p.165-168, 2013.

SOSA, A. J. et al. (eds), **Antimicrobial Resistance in Developing Countries**. New York: Springer. 2010.

SRINIVASANA, V. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. **Veterinary Microbiology**, v.124, n.3-4, p.319-328, 2007.

TADESSE, D. A. Antimicrobial Drug Resistance in *Escherichia coli* from Humans and Food Animals, United States, 1950-2002. **Emerging Infectious Diseases**, v.18, n.5, 2012.

TANSEY, Geoff; RAJOTTE, Tasmir. **The Future Control of Food: A Guide to International Negotiations and Rules on Intellectual Property, Biodiversity and Food Security**, London: Earthscan, 2008.

WEBER, T. et al. Metabolic engineering of antibiotic factories: new tools for antibiotic production in actinomycetes. **Trends in Biotechnology**, v.33, n.1, p.15–26, 2015.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados apresentado, fazem-se necessários estudos constantes sobre o perfil de resistência aos antibióticos, uma vez que a *Escherichia coli* ainda é um agente infeccioso de grande importância tanto na produção animal quanto na saúde pública.

A utilização dos antibióticos ainda não se tornou um problema dentro da avicultura, uma vez que os antibióticos testados são eficientes sobre *E. coli*. No entanto não se deve fechar os olhos a essa situação uma vez que o perfil de resistência microbiana é mutável. O presente estudo pode auxiliar no monitoramento de estipes de *E. coli*, gerando um alerta para uma vigilância acentuada sobre a utilização desses medicamento no Brasil e que não se torne dessa forma um problema de saúde pública.