DOI: 10.1590/1808-1657v71p2832004

SUSCETIBILIDADE DE AMOSTRAS DE *ESCHERICHIA COLI* DE ORIGEM AVIÁRIA A ANTIMICROBIANOS

G.F. Zanatta, A.M.I. Kanashiro, A.G.M. Castro, A.L.S.P. Cardoso, E.N.C. Tessari, S.C.P. Pulici

Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola, Rua Bezerra Paes, 2278, CEP 13690-000, Descalvado, SP, Brasil. E-mail: gre@linkway.com.br

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo verificar a suscetibilidade de cepas de *Escherichia coli* de origem aviária, a algumas drogas antimicrobianas de uso veterinário e / ou humano. Foram analisadas 120 amostras isoladas de aves comerciais necropsiadas no Laboratório de Descalvado. Foram testadas 10 drogas antimicrobianas. A tetraciclina foi a droga para a qual se verificou maior resistência (76% das amostras resistentes). A droga mais eficiente foi a fosfomicina (91,3% de amostras sensíveis). Apenas 7 amostras foram sensíveis para todas as drogas testadas, 20 apresentaram resistência a uma ou duas drogas, enquanto 93 demonstraram-se multi-resistentes (resistentes a 3 ou mais antimicrobianos). Nenhuma droga foi eficiente para todas as amostras bacterianas avaliadas.

PALAVRAS-CHAVE: *Escherichia coli*, antimicrobianos, aves.

ABSTRACT

SUSCEPTIBILITY TO ANTIMICROBIAL DRUGS OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS OF AVIAN ORIGIN. The aim of the present work was to verify the susceptibility of *Escherichia coli* strains from avian origin to some antimicrobial drugs of veterinary and / or human use. One hundred and twenty strains were analyzed, all isolated at the Laboratory of Descalvado from commercial avians. Ten antimicrobial drugs were tested. Seventy-six percent of the strains were resistant to tetracicline. The most efficient drug was fosfomycin. Only 7 strains were sensitive for all the tested drugs, 20 of them presented resistance to 1 or 2 drugs, while 93 strains were demonstrated multidrug-resistant (resistant to 3 or more antimicrobials). No drug was efficient for all the analysed strains.

KEY WORDS: *Escherichia coli*, antimicrobials, avians.

INTRODUÇÃO

Escherichia coli é uma bactéria anaeróbia facultativa, pertencente a microbiota normal do trato intestinal de animais e homens (Bonten *et al*., 1990). As amostras de *E. coli* que possuem fatores de virulência como habilidade de adesão, produção de aerobactina, resistência sérica e presença de plasmídeo CoIV, são potencialmente patogênicas para aves (Wooley *et al*., 1998; González *et al.*, 1990). O trato respiratório superior das aves é a principal porta de entrada de *E. coli* patogênica, ocorrendo a colonização e multiplicação do agente na traquéia, com posterior disseminação para os sacos aéreos e tecidos adjacentes (Sojka, 1961). A infecção por *E. coli* (colibacilose) é uma das principais doenças da avicultura industrial moderna, devido aos grandes prejuízos econômicos causados no mundo inteiro, por quadros como septicemia, peritonite, pneumonia, aerossaculite, pericardite, onfalite e salpingite, entre outros (Ferreira & Knobl, 2000).

São cada vez maiores os índices de resistência das bactérias frente aos antimicrobianos testados (Blanco *et al*., 1997), representando um sério problema mundial (Cohen, 2000). Amostras de *E. coli* isoladas de aves são freqüentemente resistentes para mais de uma droga (Gross, 1991; Ferreira & Knobl, 2000). Isto se deve principalmente ao uso indiscriminado e prolongado, concentrações subterapêuticas e terapias indequadas de antimicrobianos (Ferreira & Knobl, 2000) que proporciona uma pressão na seleção de genes de resistência antimicrobiana (Turtura *et al*., 1990; Quednau *et al.*, 1998).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a susceptibilidade de amostras de *E. coli* de origem aviária frente aos antimicrobianos comumente utilizados no setor avícola.

MATERIAIS E MÉTODOS

Aves

Foram necropsiadas aves (pintainhos, frangos de corte, reprodutoras postura comercial) com quadro clínico suspeito de colibacilose.

Colheita do material

A colheita do material dos órgãos (sacos aéreos, ovidutos, fígado e coração) com lesões macroscópicas sugestivas de colibacilose foi realizada assepticamente, utilizando-se pinças, tesouras e suabes esterilizados. O material colhido foi acondicionado em frasco coletor esterilizado e processado imediatamente.

Procedimento bacteriológico

Os suabes e fragmentos de órgãos foram inoculados em caldo BHI (Brain Heart Infusion DIFCO) e incubados a 37º C por 24h. Posteriormente foi semeado em ágar EMB (Eosina Methyleno Blue DIFCO), incubado a 37º C por 24h. As colônias com características típicas de *E. coli*, foram confirmadas através de série bioquímica, de acordo com BIER (1980). As amostras foram armazenadas em ágar nutriente (DIFCO).

Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

A metodologia empregada seguiu o método de difusão em placa descrito por BAUER & KIRBY (1966).

Cada amostra foi semeada e incubada a 37º C por 24hs em caldo Müller Hinton (DIFCO). O plaqueamento foi realizado em ágar EMB e incubado a 37º C por 24h. O inóculo foi preparado transferindo-se 3 a 5 colônias para solução salina tamponada (PBS pH 7,2), resultando em uma suspensão com turvação 0,5 da escala de McFarland. Um suabe foi saturado no caldo inóculo e semeado por toda a superfície do meio ágar Mueller-Hinton em placa de Petri de 14 cm de diâmetro. Os discos foram distribuídos uniformemente sobre a superfície do meio de cultura. As placas foram incubadas a 37º C por 24h. Procedeu-se à leitura a olho nú, utilizando-se régua para medição do diâmetro (mm) do halo de inibição. Os dados obtidos foram comparados com os da tabela padrão, classificando-os como resistente, intermediário e sensível.

Discos de Antimicrobianos

Foram testadas 10 drogas antimicrobianas: ampicilina (AMP 10 mcg), amoxicilina (AMO 10 mcg), enrofloxacina (ENO 5 mcg), norfloxacina (NOR 10 mcg), tetraciclina (TT 30 mcg), trimetoprim + sulfadiazina (TS 5 e 20 mcg), fosfomicina (FOS 200 mcg), cefalotina (CF 30 mcg), cefalexina (CFE 30 mcg), ciprofloxacina (CIP 5 mcg). Todos os discos de antimicrobianos testados eram da marca Cecon.

RESULTADOS

Foram isoladas 120 amostras de *E. coli*. Os resultados dos antibiogramas estão contidos na Tabela 1. Do total de amostras bacterianas analisadas, apenas 7 foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados, 20 demonstraram resistência a uma ou duas drogas e 93 apresentaram resistência para 3 ou mais drogas antimicrobianas.

DISCUSSÃO

No presente trabalho foi verificado que grande número das amostras de *E. coli* apresentou resistência frente aos antimicrobianos testados, assim como relataram AL-GHAMDI *et al.* (1999), LAMBIE *et al.* (2000) e CARDOSO *et al.* (2002). Dentre as drogas testadas pelo presente estudo, somente a fosfomicina mostrou-se eficiente para a maioria das amostras analisadas.

Tabela 1 - Suscetibilidade apresentada por 120 amostras de *E. coli* aviária frente a antimicrobianos.

Antimicrobianos	Resistência N° (%)	Intermediária N° (%)	Sensível N° (%)
Tetraciclina	91 (76,0)	-	29 (24,0)
Ciprofloxacina	75 (62,5)	-	45 (37,5)
Enrofloxacina	74 (62,0)	-	46 (38,0)
Amoxicilina	70 (58,0)	-	50 (42,0)
Ampicilina	70 (58,0)	-	50 (42,0)
Norfloxacina	69 (57,6)	-	51 (42,4)
Cefalexina	65 (54,6)	6 (5,00)	49 (40,4)
Cefalotina	65 (54.6)	6 (5,00)	49 (40,4)
Sulfadiazina + Trimetoprim	59 (49,5)	-	61 (50,5)
Fosfomicina	10 (8,70)	-	110 (91,3)

BLANCO *et al.* (1997), AL-GHAMDI *et al.*(1999) e SCHROEDER *et al.* (2002) observaram que a tetraciclina foi a droga para a qual detectaram mais resistência, corroborando com os resultados do presente trabalho.

As amostras bacterianas estudadas por AL-GHAMDI *et al.* (1999) apresentaram mais sensibilidade para ciprofloxacina, enquanto que no presente trabalho ocorreu maior resistência para esta droga (62,5%).

A resistência a enrofloxacina e a norfloxacina apresentou-se em 62% e 57,6% das amostras avaliadas no presente estudo, respectivamente. LAMBIE *et al.* (2000) relataram índices de resistência significativos a norfloxacina enquanto BLANCO *et al.* (1997) verificaram resistência em apenas 13% das amostras testadas. FERREIRA & KNOBL (2000) detectaram 98% e 97% de amostras resistentes a danofloxacina e enrofloxacina, respectivamente. Estudando amostras isoladas de perus, SCHROEDER *et al.* (2002) observaram resistência em 20% delas contra ácido nalidíxico. Esses autores salientaram a importância desse dado, por serem as fluoroquinolonas usadas em tratamentos de infecções por *E. coli* em humanos. Concluíram que o impacto do uso de drogas como a enrofloxacina na produção avícola e a emergência de bactérias resistentes a quinolonas e a fluoroquinolonas deve continuar a ser monitorada. BLANCO *et al.* (1997) também recomendaram que o uso dessa classe de drogas em aves deve ser prudente, pois pode ocorrer resistência cruzada com enteropatógenos humanos.

BLANCO *et al.* (1997) e LAMBIE *et al.* (2000) evidenciaram maior porcentagem de resistência ao sulfadiazina + trimetoprim do que demonstrado neste estudo (49,5%). Quanto a ampicilina, BLANCO *et al.* (1999) e SCHROEDER *et al.* (2002) encontraram menos amostras resistentes (46% e 12%, respectivamente) do que aquelas deste trabalho.

CARDOSO *et al.* (2002) observaram que porcentagem significativa de amostras de *E. coli* aviária apresentou resistência a norfloxacina, amoxicilina e sulfadiazina + trimetoprim, corroborando com os dados deste estudo. Porém, os referidos autores relataram alta resistência (70%) a fosfomicina, sendo que o presente estudo detectou sensibilidade em 91,3% das amostras testadas. Provavelmente, a fosfomicina mostrou-se a mais eficiente por ser uma droga de alto custo financeiro, inacessível a muitos produtores de aves. Portanto, trata-se de antimicrobiano pouco utilizado em avicultura, resultando em baixa pressão seletiva de genes de resistência.

Foi relatado que amostras de *E. coli* de origem aviária, apresentaram mais resistência do que em amostras isoladas de humanos (AL-GHAMDI *et al.*, 1999). Há recentes trabalhos que sugerem que o uso das tetraciclinas, drogas sulfas, cefalosporinas e penicilinas é maior fator de disseminação de *E. coli* antibióticos-resistentes (GALLAND *et al.*, 2001; VAN DEN BOGAARD *et al.*, 2001). Os resultados do presente trabalho são importantes não apenas para a avicultura como também para a medicina humana, devido aos riscos de transferência de bactérias dos animais para humanos. SCHROEDER *et al.* (2002) detectaram duas amostras de *E. coli* isoladas de humanos resistentes a ceftiofur, droga de uso exclusivo em veterinária. Esses pesquisadores concluíram que pode ocorrer transferência de bactérias resistentes entre animais e humanos. Entretanto, SADER (2004) afirmou que não foi documentada ainda ligação entre resistência em hospitais e uso de aditivos antimicrobianos em animais produtores de alimentos. O autor considerou que a resistência é uma ameaça à saúde pública mundial, sendo evidente que as doenças adquiridas em hospitais e na comunidade, não transmitidas por alimentos, são os principais problemas. Porém, o mesmo autor informou que a *E. coli* é um dos patógenos transmitidos por alimentos que causam preocupação quanto a uma relação entre animais e humanos.

Neste estudo, demonstrou-se que número preocupante de amostras de *E. coli* aviária encontram-se resistentes a drogas antimicrobianas. Salienta-se que 93 amostras bacterianas demonstraram multirresistência. O tratamento com antimicrobianos é uma das formas de diminuir o impacto da colibacilose (FERREIRA & KNOBL, 2000), mas a emergência e a disseminação de resistência antimicrobiana em amostras de *E. coli* pode complicar os tratamentos das infecções em humanos e animais (SCHROEDER *et al.*, 2002). Portanto, a realização do teste de susceptibilidade a antimicrobianos deve preceder o tratamento (FERREIRA & KNOBL, 2000). Essa prática deveria tornar-se hábito, evitando-se uso inadequado de medicamentos. Dessa forma, seria diminuída a pressão seletiva de genes de resistência antimicrobiana (QUEDNAU *et al.*, 1998; TURTURA *et al.*, 1990) e seria evitado o desperdício de medicamentos, já que uma das principais limitações do tratamento são os custos da medicação (FERREIRA & KNOBL, 2000).

CONCLUSÃO

A maioria das 120 amostras de *E. coli* analisadas pelo presente trabalho apresentou resistência a uma ou mais drogas antimicrobianas, sendo 93 delas multiresistentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-GHAMDI, M.S.; EL-MORSY, F.; AL-MUSTAFA, Z.H; AL-RAMADHAN, M.; HANIF, M. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry workers, patients and chickens in the eastern province of Saudi Arabia. *Trop. Med. Intern. Health.*, v.4, n.4, p.278-283, 1999.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M..; SHERRIS, J.C.; TURK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathol.*, v.45, p.493-496, 1966.

BIER, O. *Bacteriologia e imunologia*. 20.ed. São Paulo: Melhoramentos, 1980. 1062p.

BLANCO, J.E.; BLANCO, M.; MORA, A.; BLANCO, J. Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *J. Clin. Microbiol.*, v.35, p.2184-2185, 1997.

BONTEN, M.; STOBBERINGH, E.; HOUBEN, A. High prevalence of antibiotic resistant *Escherichia coli* in faecal samples of students in the south-east of the Netherland. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.26, p.585-592, 1990.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; CASTRO, A.G.M.; ZANATTA, G.F. Avaliação da susceptibilidade a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* de origem aviária. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.69, n.2, p.1-5, 2002.

COHEN, M.L. Changing patterns of infectious diseases. *Nature*, v.406, p.762-767, 2000.

FERREIRA, A.J.P. & KNÖBL, T. Colibacilose Aviária. In: BERCHIERI JUNIOR, A. & MACARI, M. (Eds.). *Doenças das aves*. Campinas: Facta, 2000. p.197-207.

GALLAND, J.C; HYATT, D.R.; CRUPPER, S.S.; ACHESON, D.W. Prevalence, antibiotic susceptibility, and diversity of *Escherichia coli* O157:H7 isolates from a longitudinal study of beef cattle feedlots. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.67, p.1619-27, 2001.

GONZÁLEZ, E.A.; BLANCO, J.; BALODA, S.B.; FORMAN, G.; DHO, M.; LAFONT, J.P.; WADSTRÖM, T. Virulent *Escherichia coli* strains for chicks bind fibronectin and type II collagen. *Microbios*, v.62, p.113-127, 1990.

LAMBIE, N.; GELEKA, M.; BROWN, G.; RYAN, J. Retrospective study on *Escherichia coli* infection in broilers subjected to postmorten examination and antibiotic resistance of isolates in Trinidad. *Avian Dis.*, v.44, p.155-160, 2000.

QUEDNAU, M.; AHRNÉ, S.; PETERSSON, A.C.; MOLIN, G. Antibiotic-resistant strains of *Enterococcus* isolated from Swedish and Danish related chickens and pork. *J. Appl. Microbiol.*, v.84, p.1163-1170, 1998.

SADER, H.S. O uso de antimicrobianos promotores de crescimento contribui para a resistência a antibióticos? In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 5., 2004, Santos, SP. *Anais*. Santos: 2004. v.2, p.211-217.

SCHROEDER, C.M.; MENG, J.; ZHAO, S.; DEBRO, C.; TORCOLINI, J.; ZHAO, C.; MCDERMOTT, P.F.; WAGNER, D.D.; WALKER, R.D.; WHITE, D.G. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O26, O103, 00128, and O145 from animals and humans. *Emerg Infect Dis.*, v.8, n.12, 2002. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ndcido/eid/vol.8no12/02-0070.htm>. Acesso em: 21 jul. 2004.

SOJKA, W.J. & CARUAGHAN, R.B.A. *Escherichia coli* infection in poultry. *Res. Vet. Sci.*, v.2, p.340-352, 1961.

TURTURA, G.C.; MASSA, S.; GHAZVINIZADEH, H. Antibiotic resistance among coliform bacteria isolated from carcasses of commercially slaughtered chickens. *Int. J. Food Microbiol.*, v.11, p.351-354, 1990.

VAN DEN BOGAARD A.E.; LONDON N.; DRIESSSEN C.; STOBBERINGH E.E. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.47, p.763-771, 2001.

WOOLEY, R.E; GIBBS, P.S.; BROWN, T.P.; GLISSON, J.R.; STEFFENS, W.L.; MAUER, J.L. Colonization of the chickens trachea by an avirulent avian *Escherichia coli* transformed with plasmid pHK 11. *Avian Dis.*, v.42, p.194-198, 1998.

Recebido em 5/7/04
Aceito em 28/7/04