PROCKSCH, H. Fernanda<sup>1</sup> WEBER, D. Laís <sup>2</sup>

#### **RESUMO**

Nas últimas décadas, a avicultura se desenvolveu de maneira considerável no mundo, especialmente no Brasil, que é considerado o segundo maior produtor e o maior exportador mundial de carne de frango. A resistência bacteriana a antibióticos é um sério problema do ponto de vista clínico e de saúde pública. Há evidências que o tratamento indiscriminado de animais com antibióticos torne seus produtos e derivados, fonte para resistência aos antibióticos na espécie humana. Desta forma, é de extrema importância o isolamento e identificação desses agentes em laboratório. Os sorovares de *Salmonella* isolados foram Typhimurium, Heildelberg, Agona, Minessota, Newport, Infantis e como controle foi utilizado a Typhimurium ATCC 14028. Foram testados quanto a sensibilidade aos seguintes antimicrobianos: Ampicilina, Amoxicilina, Enrofloxacina, Eritromicina, Neomicina, Norfloxacina, Tetraciclina, Penicilina e Sulfazotrim. Todas as cepas apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano testado, além disso 6 delas apresentaram multirresistência, ou seja, foram resistentes a quatro ou mais antimicrobianos. O aumento da resistência antimicrobiana pode ser veiculado ao uso intensivo de antimicrobianos como promotores de crescimento na produção animal.

A importância do uso de forma mais prudente de antimicrobianos ou da substituição dos mesmos por antimicrobianos alternativos naturais, assim como o monitoramento constante de *Salmonella* na cadeia avícola, vem a contribuir com a saúde pública no sentido de reduzir a disseminação de sorotipos resistentes, mantendo o espectro de ação e a eficácia

Palavras-Chave: Salmonella Spp.; Antibiograma; Resistencia Antimicrobiana; Multirresistência; Avicultura;

## 1. INTRODUÇÃO

clínica desses antimicrobianos.

Nas últimas décadas, a avicultura se desenvolveu de maneira considerável no mundo, especialmente no Brasil, que é considerado o segundo maior produtor e o maior exportador mundial de carne de frango. Para que o Brasil se mantenha nesta posição de excelência, é fundamental um monitoramento sanitário e tecnológico, atuante em todo o sistema produtor avícola (BRASIL, 2015).

A Salmonella é um dos principais patógenos relacionados com doenças transmitidas por alimento (DTA). De acordo com Tunon et al. (2008) os ovos e a carne de frango são alimentos comumente apontados como fonte de isolamento de Salmonella spp. estando envolvidos em surtos alimentares. Segundo Rezende et al. (2005), salmonelas paratíficas são, dentre as salmoneloses aviárias, aquelas de maior interesse em saúde animal e saúde pública e seu isolamento tem sido constante nos produtos de origem aviária.

Conforme Mendonça (2011) a *Salmonella* spp. está amplamente difundida na natureza, especialmente onde há uma alta densidade avícola. Ela é capaz de infectar diversos animais, podendo ser encontrada no trato gastrointestinal de mamíferos, répteis e até mesmo insetos, sendo as aves um

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Discente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Assis Gurgacz. E-mail: ferheloisa\_@hotmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Médica Veterinária. Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais (UNIOESTE). Docente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Assis Gurgacz. laisweber@fag.edu.br

dos mais importantes reservatórios, capazes de introduzir a Salmonella na cadeia alimentar do homem.

No Brasil, segundo dados da Secretaria de Vigilância em Saúde, ocorreram 1.525 surtos de salmonelose, entre os anos 2000 a 2013 (BRASIL, 2013). Silva *et al.* (2014) relatam que isso representa um problema à saúde pública, pois atualmente há um elevado uso de antibióticos no processo de produção animal, levando a seleção de linhagens bacterianas resistentes aos diferentes princípios ativos, dificultando o tratamento de infecções.

A resistência bacteriana a antibióticos é um sério problema do ponto de vista clínico e de saúde pública. Há evidências que o tratamento indiscriminado de animais com antibióticos torne seus produtos e derivados, fonte para resistência aos antibióticos na espécie humana. Desta forma, é de extrema importância o isolamento e identificação desses agentes em laboratório, como prova definitiva no diagnóstico das enfermidades e, a análise *in vitro* da sensibilidade antimicrobiana se faz necessário nas amostras isoladas. Assim, contribuindo para um melhor controle, com a utilização de terapêutica adequada, além de promover um decréscimo na resistência aos antibióticos (Mota *et al.*., 2005).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a sensibilidade antimicrobiana de diferentes sorovares de *Salmonella* previamente isoladas de carcaças de frango no ano de 2018 na região Oeste do Paraná.

### 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 2.1 AVICULTURA DO NO BRASIL

De acordo com o relatório anual da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), o Brasil ocupa o segundo lugar na produção avícola, com um total de 13.056 toneladas por ano, ficando atrás apenas do Estados Unidos. Sendo o Paraná o maior exportador de carne de frango (BRASIL, 2018).

A produção de frangos de corte, atualmente, é considerada uma atividade econômica internacionalizada e uniforme, sem fronteiras geográficas de tecnologia. As características desta atividade contribuem para aumentar a geração de emprego e de renda no campo (RODRIGUES *et al.*, 2014).

Segunda a união Brasileira de Avicultura (UBABEF), o setor tem hoje relevante importância social e econômica. Sendo 3,6 milhões de empregos diretos e indiretos, que agregam produtores, frigoríficos e exportadores, gerando mais de 300 mil empregos de fábrica (BRASIL, 2012).

#### 2.2 PROBLEMÁTICA DA SALMONELLA

Atualmente as salmoneloses ocupam uma das posições mais destacadas no campo da saúde pública em todo o mundo, pois apesar de todo o desenvolvimento tecnológico e da adoção de melhores medidas de higiene, é crescente e relevante o número de casos de salmonelose humana e animal (PENHA *et al.*, 2008).

As salmoneloses são enfermidades provocadas por bactérias do gênero *Salmonella*, pertencentes à família *Enterobacteriaceae* sendo conhecidos mais de 2.500 sorotipos (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

As infecções por *Salmonella* são responsáveis por uma variedade de doenças agudas e crônicas em aves, sendo clinicamente classificadas em três enfermidades: pulorose, causada por *Salmonella* Pullorum, tifo aviário, causado por *Salmonella* Gallinarum e infecções paratíficas.

As salmonelas paratíficas são as de maior interesse em saúde animal e saúde pública e seu isolamento é freqüente nos produtos de origem aviária. A maioria dos sorovares existentes pode colonizar o intestino das aves sem causar doença; entretanto *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis podem causar doenças e intoxicações alimentares em humanos (CARDOSO e TESSARI, 2008).

#### 2.3 ANTIMICROBIANOS E SUA IMPORTANCIA NA AVICULTURA E RESISTENCIA

A utilização de antimicrobianos na avicultura é uma medida preventiva ao desenvolvimento desta bactéria, porém é considerado um problema. Pois para que os frangos sejam abatidos, o período de carência dos antimicrobianos deve ser respeitado, a fim de que não haja resíduos de antibióticos na carne (SILVA *et al.*, 2014).

De acordo com Mendes *et al.* (2013), os promotores de crescimento são geralmente antimicrobianos utilizados em doses baixas nas rações. Esta constante exposição dos animais a estes produtos pode levar a seleção de uma microbiota resistente, mesmo que este traga uma melhoria do ganho médio de peso e da eficiência alimentar das aves

O uso indiscriminado de antibióticos além de fornecer risco à população pela sua presença no alimento, também pode levar a seleção de linhagens bacterianas resistentes aos diferentes princípios ativos, dificultando o tratamento de infecções (GREESON *et al.*, 2013).

Segundo Toro *et al.* (2013), é preocupante o aumento dos isolados de Salmonella spp. resistentes aos principais antibióticos utilizados nos tratamentos de surtos causados por este microorganismo.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram adquiridas seis cepas de *Salmonella*, provenientes de isolados de "swab" de diferentes partes de frango e propé de granjas avícolas da região Oeste do Paraná, no ano de 2018. Estas foram adquiridas através do laboratório Mercolab, localizado na cidade de Cascavel-PR.

Os sorovares isolados foram Typhimurium, Heildelberg, Agona, Minessota, Newport, Infantis e como controle foi utilizado a Typhimurium ATCC 14028.

Foram testadas quanto a sua sensibilidade a diferentes princípios ativos antimicrobianos, através do método de disco difusão em Ágar Mueller-Hinton, está técnica foi descrita por Kirby e Bauer, segundo a NCCLS (2003) a qual é utilizada até os dias de hoje, como relatada no manual técnico do Laboratório Laborclin (2011).

A técnica de difusão em placa (disco-difusão) idealizada por Kirby e Bauer (2003) fornece informações sobre a sensibilidade ou resistência de micro-organismos a diferentes antimicrobianos. Possui algumas condições padronizadas quanto à composição e volume do meio de cultura sólido (geralmente Ágar Muller-Hinton), concentração da espécie bacteriana cuja sensibilidade deseja-se conhecer, temperatura e tempo de incubação e concentração de antimicrobianos (BARBOSA; TORRES, 2000). Esse método é qualitativo, permitindo classificar a bactéria como: sensível, intermediária ou resistente ao antimicrobiano testado (NCCLS, 2000; BARBOSA, 2000).

As cepas foram retiradas do Ágar Estoque e semeadas em caldo infusão cérebro-coração (BHI) e incubadas em estufa bacteriológica de 35-37 °C por 16 a 24 horas. Após o crescimento os cultivos foram diluídos em solução salina estéril (0,9%) até atingir a concentração de  $1\times10^8$  UFC/mL, correspondendo a 0,5 na escala de MacFarland. Após esse procedimento foi espalhado com o auxílio de um swab estéril cerca de  $100~\mu$ L da solução sobre a superfície da placa de Petri contendo 4 milímetros de espessura de ágar Muller Hinton® (MERCK). Realizado em triplicatas.

Posteriormente sobre a superfície da placa foi depositado com pinça estéril os seguintes discos de antimicrobianos: Ampicilina (AMP) 10μg, Amoxicilina (AMO) 10 μg, Enrofloxacina (ENO) 5μg, Eritromicina (ERI) 15 μg, Neomicina (NEO) 30 μg, Norfloxacina (NOR) 10 μg, Tetraciclina (TET) 30 μg, Penicilina (PEN) 10 μg e Sulfazotrim (SUT) 25 μg. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 – 37°C por 24 horas e a leitura dos resultados baseou-se no diâmetro do halo de inibição a partir de duas medidas perpendiculares, visando-se obter o diâmetro médio para cada antimicrobiano.

#### 4. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Na Tabela 1 encontra – se os resultados obtidos no presente trabalho, onde é possível visualizar os padrões de resistência aos antimicrobianos testado frente aos sorotipos de *Salmonella*, isolados de suabe no ano de 2018, na região Oeste do Paraná.

Tabela 1 – Distribuição dos padrões de resistência dos sorovares de *Salmonella* frente aos antimicrobianos testados

Cepas	Antimicrobianos								
	AMO	AMP	ENO	ERI	NEO	NOR	PEN	SUT	TET
Agona	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Heidelberg	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Infantis	R	R	S	R	S	S	R	R	S
Minesota	R	R	I	R	R	R	R	R	R
Newport	R	R	S	R	S	S	R	R	S
Thyphimurium	R	R	I	R	R	S	R	R	R
ATCC	S	S	S	R	S	S	S	S	S

AMO= amoxicilina; AMP= ampicilina; ENO= enroflocaxina; ERI= eritromicina; NEO= neomicina; NOR= norfloxacina; PEN= penicilina; SUT= sulfazotrim; TET= tetraciclina;

Organismos classificados como resistentes referem-se àqueles que não são inibidos pelas concentrações sistêmicas de um dado antibacteriano quando administrado nas doses normais ou se enquadram num limite onde os mecanismos de resistência microbiana são semelhantes ou ainda sua eficácia clínica não tenha sido comprovada. A classificação intermediaria inclui organismos com valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) semelhantes àqueles atingidos por antibacterianos no sangue e tecidos e cuja avaliação da resposta venha a ser inferior a isolados sensíveis. A classificação sensível significa que uma dada infecção bacteriana pode ser adequadamente tratada com a dose do agente antimicrobiano recomendado para aquele tipo de infecção e espécies infectantes, a menos que haja contraindicação (SENSIFAR E MULTIFAR-CEFAR®, 2015)

Os resultados indicam que todos os sorovares (100%) de *Samonella* foram resistentes ao antimicrobiano Eritromicia (ERI) 15 µg, o que corrobora com o estudo de Silva *et al.* (2014), no seu trabalho obteve um percentual de 94% das cepas resistentes ao antibiótico eritromicina.

O teste de suscetibilidade demonstrou que os sorotipos de *Salmonella* tiveram maior índice de resistência aos antimicrobianos amoxicilina (85,8%), ampicilina (85,8%), eritromicina (100%), penicilina (85,8%) e sulfazotrim (85,8%). Nos estudos realizados por Rezende *et al.* (2005) observou que 36% das cepas foram resistentes a ampicilina e que 15% demonstraram – se resistentes ao sulfazotrim. O autor Silva *et al.* (2014) também teve resultados semelhantes, onde 58% das cepas foram resistentes a penicilina.

Das 7 cepas testadas 5 foram sensíveis a tetraciclina (71,5%), sendo elas a *Salmonella* Agona, Heidelberg, Infantis, Newport e a ATCC, resultados que diferem dos encontrados por Menin *et al.* (2008). Em estudos mais atuais, como o de Moraes *et al.* (2014) revela que só 7 de 53 (13%) das cepas analisadas foram resistentes ao mesmo antibiótico. Porem as cepas Thypimurium e Minesota mostraram-se resistentes a tetraciclina, o mesmo demonstra Galdino *et al.* (2013).

De acordo com Moraes *et al.* (2014) 20% das cepas foram resistentes ao antimicrobiano amoxilicina, o que corrobora com o presente trabalho, onde exceto a *Salmonella* ATCC não demonstrou resistência, sendo sensível ao antibiótico.

O sorovar Minesota foi o único que se apresentou resistente ao antimicrobiano Norfloxacina, sendo os demais sensíveis. Galdino *et al.* (2013) verificou a sensibilidade dos isolados e obteve 100% das amostras sensíveis ao antimicrobiano, sendo também sensíveis a neomicina e tetraciclina.

Todas as cepas apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano testado, além disso 6 delas apresentaram multirresistência, ou seja, foram resistentes a quatro ou mais antimicrobianos. Spricigo *et al.* (2008) obteve resultados semelhantes, onde 56% foram resistentes a pelo menos um antimcrobiano e 20% foram multirresistentes.

De maneira geral, observaram-se que os sorotipos mais prevalentes foram Minesota, Thypimurim, Agona e Heidelberg, sendo que os sorotipos Minesota, Thypimurim e Agona apresentaram maior índice de múltipla resistência.

Os resultados obtidos juntamente a estudos recentes, como de Pandini *et al.* (2015) demonstram a grande frequência de *Salmonella* isoladas na avicultura, a qual tem impacto direto na saúde pública, devido ao aumento da resistência aos antimicrobianos.

O aumento da resistência antimicrobiana pode ser veiculado ao uso intensivo de antimicrobianos como promotores de crescimento na produção animal (Silva *et al.*, 2014). A importância do uso de forma mais prudente de antimicrobianos ou da substituição dos mesmos por antimicrobianos alternativos naturais, assim como o monitoramento constante de *Salmonella* na cadeia avícola, vem a contribuir com a saúde pública no sentido de reduzir a disseminação de sorotipos resistentes, mantendo o espectro de ação e a eficácia clínica desses antimicrobianos.

### **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

No presente trabalho notou-se multirresistência dos sorotipos Minesota, Thypimurim e Agona. O sorovar Thypimurium é de grande importância na saúde pública, pois normalmente está associado aos casos de intoxicação alimentar em humanos.

Em frente ao presente estudo se faz necessário uma reflexão e analise de todo o setor avícola, sendo necessário uma busca por melhorias, medidas profiláticas para o controle de *Salmonella* na avicultura. Uma vez que a resistência destes micro-organismos vem se mostrando cada vez maior, o que gera grande preocupação na saúde pública e animal. O uso responsável dos agentes antimicrobianos baseado na compreensão dos mecanismos de resistência bacteriana, bem como a busca por agentes antimicrobianos alternativos, constitui medidas eficazes para o controle e prevenção destes patógenos.

### **REFERÊNCIAS**

BARBOSA, H. R; TORRES, B. B. Microbiologia Básica. São Paulo. Editora Atheneu. 171p. 2000

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Antimicrobianos - Bases teóricas e uso clínico. Disponível em:

<a href="http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede\_rm/cursos/rm\_controle/opas\_web/modulo1/conceitos.htm">http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede\_rm/cursos/rm\_controle/opas\_web/modulo1/conceitos.htm</a>>. Acesso em: 02 outubro 2018. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos. Brasília, 2013. 23 p.

BRASIL. Associação Brasileira De Proteína Animal. Relatório anual 2015. São Paulo, 2015.

BRASIL. Associação Brasileira De Proteína Animal. Relatório anual 2018. São Paulo, 2018.

BRASIL. União Brasileira de avicultura. Relatório anual. São Paulo, 2012.

CARDOSO, A.L.S.P. & TESSARI, E.N.C. Salmonela Na Segurança Dos Alimentos. **Biológico**. São Paulo, v.70, n.1, p.11-13, jan. /jun., 2008

GALDINO, V. M. C. A.; MELO, R. T.; OLIVEIRA, R. P.; MENDONÇA, E. P.; NALEVAIKO, P. C.; ROSSI, D. A. Virulência De *Salmonella* Spp. De Origem Avícola E Resistência A Antimicrobianos. **Biosci. J.** Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 932-939, July/Aug. 2013

GREESON, K.; SULIMAN, G.M.; SAMI, A.; ALOWAIMER, A.; KOOHMARAIE, M. Frequency of antibiotic resistant *Salmonella*, *Escherichia* coli, *Enterococcus*, and *Staphylococcus* aureus in meat in Saudi Arabia. African Journal of Microbiology Research, v.7, n.4, p.309 316, 2013.

MENDES, F. R.; LEITE, P. R. S. C.; FERREIRA, L. L.; LACERDA, M. J. R.; ANDRADE, M. A. Utilização de antimicrobianos na avicultura. **Revista Eletrônica Nutritime.** v. 10, n.2, p. 2352 - 2389- março – abril /2013.

MENDONÇA, E. P. **Disseminação de** *Salmonella* **spp. na cadeia produtiva do frango de corte**. 2011. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Veterinária) — Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.

MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E.; Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. **Ciencia Rural. Santa Maria**, v. 38, n.6, p. 1687-1693, set, 2008.

MORAES, D. M. C.; ANDRADE, M. A.; REZENDE, C. S. M.; BARNABÉL, A. C. S.; JAYMEL, V. S.; NUNES, I. A.; BATISTA, D. A. Fontes de infecção e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas no fluxo de produção de frangos de corte. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.81, n.3, p. 195-201, 2014

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M. F. L.; PORTO, W. J. N.; SILVA, L. B. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

- NCCLS National Committee for clinical Laboratory Standards. Approved Standard M2-A8. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. Wayne, PA: **National Committee for Clinical Laboratory Standards**. 177p, 2003.
- PANDINI, J. A.; PINTO, F. G. S.; MULLER, J. M.; WEBER, L. D.; MOURA, A. C. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.82, p. 1-6, 2015.
- PENHA, G. A.; SUZUKI, É. Y.; UEDA, F. S.; PERES PEREIRA, R. E.; Diagnóstico da salmonelose e sua importância para a avicultura: revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. São paulo, n. 10, jan, 2008.
- REZENDE, C. S. M.; MESQUITA, A. J.; ANDRADE, M. A.; LINHARES, G. F. C.; MESQUITA, A. Q.; MINAFRA, C. S. Sorovares de Salmonella isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos. Goiânia GO, 2005. Disponível em: http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf6\_2005/100\_199-203.pdf/ Acesso em 19 de jun. de 2018.
- RODRIGUES, W. O. P.; GARCIA, R. G.; NAAS, I. A.; ROSA, C. O.; CALDARELLI, C. E. Evolução Da Avicultura De Corte No Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer Goiânia, v.10, n.18; p.1671, 2014
- SENSIFAR E MULTIFAR-CEFAR®. Discos para Antibiograma. São Paulo. abr, 2015. Disponivel em:< <a href="https://www.centerkit.com.br/pdfs/1934236026-Bula\_Multifar\_-\_Cefar.pdf">https://www.centerkit.com.br/pdfs/1934236026-Bula\_Multifar\_-\_Cefar.pdf</a>> acesso em: 28 de nov de 2018.
- SILVA, C. J.; TEJADA, T. S.; TIMM, C. D. Resistência de Salmonella isoladas de humanos e de frangos a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.** Ceará, n. 4, v. 8, p. 120-131, out/dez 2014.
- SPRICIGO, D. A.; MATSUMOTO, S. R.; ESPÍNDOLA, M. L.; FERRAZ, S. M. Prevalência, quantificação e resistência a antimicrobianos de sorovares de Salmonella isolados de lingüiça frescal suína. **Ciênc. Tecnol. Aliment.,** Campinas, 28(4): 779-785, out.-dez. 2008
- TORO, M.; SERAL, S.; ROJO BEZARES, B.; TORRES, C.; CASTILLO, F.J.; SAÉNZ; Y. Resistencia a antibióticos y factores de virulencia em isolados clínicos de Salmonella enterica. Enfermidades Infecciosas y Microbiología Clínica, v. 32, n.1, p. 4-10, 2013.
- TRABULSI, R. L.; ALTERTHUM, F.; Microbiologia. São Paulo: Atheneu, 2005
- TUNON, G. I. L.; NUNES, R. M.; SILVA, T. M.; CALASANS, M. W. M. Resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango resfriada comercializada em Aracaju, Sergipe. **Boletim Epidemiológico Paulista.** São Paulo, v. 5, n. 52, p. 4 6, abril, 2008.