

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE AMOSTRAS DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE FRANGO INDUSTRIAL (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS* - LINNAEUS, 1758) COM COLIBACILOSE

G.A. Marietto Gonçalves; R.L. Andreatti Filho

Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Clínica Veterinária, Laboratório de Ornitopatologia, CP 560, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: gmarietto_ornito@fmvz.unesp.br

RESUMO

O presente estudo avaliou a susceptibilidade de amostras de *Escherichia coli* isoladas de quadros de colisepticemia aviária da região centro-oeste paulista pelo Laboratório de Ornitopatologia da FMVZ-UNESP/Botucatu, SP. Constatou-se um grande número de amostras multirresistentes aos antibióticos testados, onde as drogas menos efetivas foram sulfonamida e tetraciclina. Todas as amostras mostraram-se sensíveis a norfloxacin e gentamicina.

PALAVRAS-CHAVE: *Escherichia coli*, antibiograma, ornitopatologia, saúde animal.

ABSTRACT

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF SAMPLES OF *ESCHERICHIA COLI* ISOLATED FROM INDUSTRIAL CHICKENS (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS* - LINNAEUS, 1758) WITH COLIBACILLOSIS. The present study evaluated the susceptibility of *Escherichia coli* samples isolated from poultry with colisepticemia in midwestern São Paulo State at the Ornitopathology Laboratory of FMVZ-UNESP/Botucatu, SP. A large number of samples were found that were multi-resistant to the antibiotics tested, the less effective drugs being sulfonamide and tetracycline. All samples were susceptible to norfloxacin and gentamicin.

KEY WORDS: *Escherichia coli*, antibiogram, avian pathology, animal health.

Escherichia coli é uma bactéria anaeróbia facultativa pertencente à microbiota normal do trato intestinal de animais e seres humanos (BONTEN *et al.*, 1990). A infecção por *E. coli* (colibacilose) é uma das principais doenças da avicultura industrial moderna, devido aos grandes prejuízos econômicos causados no mundo inteiro (FERREIRA; KNOBL, 2000). O uso indiscriminado de antimicrobianos, as subdosagens e a adição de promotores de crescimento à dieta, que expõe os animais por longos períodos a pequenas concentrações de antibióticos, colaboraram para a seleção e manutenção de organismos resistentes (MCEWEN; FEDORKA-CRAY, 2002; ANDREATTI FILHO, 2007).

A resistência microbiana pode ser associada a um aumento na virulência da cepa, resultante da aquisição de genes com fatores de resistência e também pela escolha empírica do agente de tratamento, antes do teste de susceptibilidade (TRAVERS; BARZA, 2002).

Um antibiograma é um ensaio que mede a susceptibilidade/resistência de uma bactéria a um ou mais agentes antimicrobianos (KONEMAN *et al.*, 1992).

Pode ser utilizado tanto para análise do espectro de sensibilidade/resistência a drogas de uma bactéria, quanto para determinação da concentração mínima inibitória.

O presente trabalho avaliou a susceptibilidade de cepas de *E. coli* isoladas de aves industriais com quadro de colibacilose atendidas no Laboratório de Ornitopatologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, *campus* de Botucatu, SP, perante alguns antibióticos utilizados na prática veterinária.

Foram necropsiadas aves de diversas idades e finalidades (pintinhos, frango de corte e reprodutoras) com suspeita clínica de colibacilose, tendo-se coletado de forma asséptica com o auxílio de tesouras e pinças estéreis, órgãos (saco vitelino, sacos aéreos, pulmão, coração, ovário e oviduto) com lesões macroscópicas sugestivas da doença. Após a coleta, os órgãos foram acondicionados em frascos estéreis e imediatamente processados.

Após maceração, os fragmentos de órgãos foram inoculados em caldo cérebro-coração (Oxoid) e in-

cubados a 37° C por 24 horas. Após esse período, semeou-se o caldo em ágar MacConkey (Merck) e verde brilhante (Intermédia), sendo novamente incubados a 37° C por 24 horas, conforme descrição de ARP (1989). Após a verificação de amostras sugestivas para *E. coli*, confirmou-se o diagnóstico por meio de série bioquímica, de acordo com HOLT *et al.* (1994). Após a identificação, as amostras foram armazenadas em tubos com ágar nutriente (Difco).

Para a realização dos antibiogramas utilizou-se o método proposto por BAUER *et al.* (1966). Primeiramente as amostras foram cultivadas em caldo Miller-Hilton (Difco), incubadas a 37° C por 24 horas. Pipetou-se 0,1 mL de cada caldo (de cada amostra) em placas de ágar Mueller-Hilton (Difco), espalhando-se de forma homogênea a gota por toda a superfície da placa com o uso de alça de Drigalski. Em seguida, depositaram-se os discos contendo os antibióticos utilizados no estudo. Por fim as placas foram incubadas a 37° C por 24 horas, realizando-se a leitura após este período.

Foram testadas 17 drogas antibióticas: ácido nalidíxico (NAL 30mcg), amoxicilina (AMO 10 mcg), ampicilina (AMP 10 mcg), cefaclor (CFC 30 mcg), ceftiofur (CTF 30 mcg), ciprofloxacina (CIP 5 mcg), cloranfenicol (CLO 30 mcg), enrofloxacina (ENO 5 mcg), estreptomicina (EST 10 mcg), gentamicina (GEN 10 mcg), neomicina (NEO 30 mcg), norfloxacina (NOR 10 mcg), perfloxacina (PEF 5 mcg), sulfonamida (SUF 300 mcg), tetraciclina (TET 30 mcg), trimetoprim (TRI 5 mcg). Todos os discos de antibióticos testados eram da marca Sensifer® (Cefar).

Foram isoladas 27 amostras de *E. coli* oriundas de quadros de colibacilose. Os resultados dos anti-

biogramas estão contidos na Tabela 1. Das amostras isoladas, somente uma amostra mostrou-se sensível a todos os antibióticos testados. Observou-se que sete amostras apresentaram resistência somente a uma droga, 14 apresentaram resistência a duas ou três drogas e cinco apresentaram multi-resistência entre seis e oito drogas.

Das amostras multirresistentes notou-se que 12 apresentaram interação de resistência entre SUL/TET, seis SUL/NEO e cinco SUL/NAL, sendo que entre estas também coincidiram a associação multirresistente de SUL/TET/NEO em quatro amostras, SUL/TET/TRI e SUL/TET/NEO/NAL em três amostras cada uma.

Nesse estudo foram utilizados oito grupos de antibióticos: aminoglicosídeos (EST, GEN, NEO), cefalosporinas (CFC, CTF), cloranfenicol (CLO), diaminopirimidinas (TRI), quinolonas (ENO, CIP, NAL, NOR e PER), penicilinas (AMO, AMP), sulfas (SUL) e tetraciclina (TET). Destes, a sulfá foi o grupo farmacológico que apresentou um menor grau de inibição com 59,2% das amostras bacterianas resistentes, seguida por tetraciclina (44,4%) pelas quinolonas e aminoglicosídeos (ambos com 40,7%), penicilinas (14,8%), diaminopirimidina (11,1%), cefalosporinas (7,4%) e o cloranfenicol sendo o grupo com melhor desempenho com apenas 3,7% de amostras resistentes.

Notou-se resistência em quase todas as drogas testadas, onde somente a ciprofloxacina, norfloxacina e gentamicina não apresentaram amostras resistentes, sendo as duas últimas (norfloxacina e gentamicina) totalmente eficientes, ao contrário do observado por BLANCO *et al.* (1997), CARDOSO *et al.* (2002), VAN DEN BOGAARD *et al.* (2001) e ZANATTA *et al.* (2004) que relataram um alto índice de resistência a estes antibióticos.

Tabela 1 - Susceptibilidade apresentada pelas 27 amostras de *Escherichia coli* frente aos antibióticos testados.

Antibióticos	Sensível N° (%)	Intermediário N° (%)	Resistência N° (%)
Ácido Nalidíxico	17 (63)	0	10 (37)
Amoxicilina	4 (14,8)	20 (74)	3 (11,2)
Ampicilina	26 (96,3)	0	1 (3,7)
Cefaclor	2 (7,4)	23 (82,2)	2 (7,4)
Ceftiofur	13 (48)	13 (48)	1 (4)
Ciprofloxacina	26 (96,3)	1 (3,7)	0
Cloranfenicol	26 (96,3)	0	1 (3,7)
Enrofloxacina	21 (77,8)	4 (14,8)	2 (7,4)
Estreptomicina	20 (74)	4 (14,8)	3 (11,2)
Gentamicina	27 (100)	0	0
Neomicina	14 (51,9)	2 (7,4)	11 (40,7)
Norfloxacina	27 (100)	0	0
Perfloxacina	19 (70,4)	2 (7,4)	6 (22,2)
Sulfanamida	8 (29,6)	1 (3,7)	18 (66,7)
Tetraciclina	14 (52)	0	13 (48)
Trimetoprim	24 (88,8)	0	3 (11,2)

Além de norfloxacin e gentamicina, outras drogas apresentaram uma boa eficiência, porém com algumas poucas amostras resistentes igualmente a SHAREEF (2004), MALIK *et al.* (2005) e MILES *et al.* (2006) foram ampicilina, trimetoprim e cloranfenicol, enquanto AL-GHAMDI *et al.* (1999) e ZANATTA *et al.* (2004) observaram um alto índice de resistência para ampicilina, BLANCO *et al.* (1997) para trimetoprim.

Como observado por BLANCO *et al.* (1997) e MALIK *et al.* (2005), a perfloxacin, enrofloxacin e estreptomycin apresentaram um bom índice de sensibilidade, apesar de se observarem amostras resistentes, contrariando SCHROEDER *et al.* (2002) e MILES *et al.* (2006) que observaram alta resistência para estreptomycin e enrofloxacin, respectivamente.

Ceftiofur e o cefaclor foram drogas que apresentaram um baixo índice de resistência, porém se apresentaram com um espectro de ação intermediário, diferente de SCHROEDER *et al.* (2002) e MALIK *et al.* (2005) que observaram uma boa eficiência com o ceftiofur e com outras cefalosporinas, com exceção da cefalotina que nestes estudos apresentou resistência.

Outra droga que apresentou um espectro de ação intermediário com uma quantidade baixa de amostras resistente foi a amoxicilina, assim como observado por BLANCO *et al.* (1997), SCHROEDER *et al.* (2002) e MILES *et al.* (2006). O ácido nalidíxico apresentou uma boa quantidade de amostras sensíveis, mas com uma quantidade relativamente alta de amostras resistentes, semelhante ao observado por BLANCO *et al.* (1997) e MILES *et al.* (2006).

Tetraciclina e neomicina apresentaram-se como drogas de efetividade mediana, pois, nas amostras estudadas, os números de amostras resistentes quase que se equivaleram com as amostras sensíveis, semelhante à MALIK *et al.* (2005) para tetraciclina e BLANCO *et al.* (1997) para neomicina, mas estes últimos autores, como SCHROEDER *et al.* (2002) e MILES *et al.* (2006), observaram um alto índice de resistência à tetraciclina e VAN DEN BOGAARD *et al.* (2001) à neomicina. Das drogas testadas, a sulfonamida foi a que apresentou o maior índice de resistência bacteriana, semelhante ao observado por todos os autores consultados neste estudo.

O alto índice de resistência à sulfonamida pode ser atribuído principalmente pelo seu emprego em larga escala no controle e erradicação de outros agentes patogênicos, neste caso, principalmente contra coccídeos. Drogas como a tetraciclina, ácido nalidíxico e neomicina são muito utilizadas por serem de baixo custo e fácil obtenção, o que explica também o número de amostras com resistência. As penicilinas, cefalosporinas, trimetoprim, estreptomycin, enrofloxacin e perfloxacin foram drogas de perfil inibitório razoável neste estudo. Devido ao excelente desempenho, a ciprofloxacina, norfloxacina e gentamicina podem ser possíveis drogas de primeira escolha em um surto de colibacilose "a campo".

Apesar do observado nesse estudo, a prática da análise de perfil de sensibilidade sempre deve ser avaliada conforme uma nova amostra é isolada, pois esta pode variar conforme a região geográfica, as drogas disponíveis no mercado e o seu poder econômico.

Com os resultados deste estudo concluiu-se que sulfanamida e tetraciclina são as drogas que apresentaram menor eficácia para o tratamento de colibacilose devido ao alto índice de resistência, e ciprofloxacina, norfloxacina e gentamicina são drogas totalmente eficientes com ausência total de resistência na avaliação *in vitro*, o que as tornam possíveis drogas de primeira escolha em casos de surto de colibacilose aviária na região de Botucatu, SP.

REFERÊNCIAS

- AL-GHAMDI, M.S.; EL-MORSY, F.; AL-MUSTAFA, Z.H.; AL-RAMADHAM, M.; HANIF, M. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry workers, patients and chicken in the eastern province of Saudi Arabia. *Tropical Medicine and International Health*, v.4, n.4, p.278-283, 1999.
- ANDREATTI FILHO, R.L. Colibacilose Aviária. In: ANDREATTI FILHO, R.L. (Ed.). *Saúde aviária e doenças*. São Paulo: Roca, 2007. p.112-117.
- ARP, L.H. Collibacillosis. In: CHAIRMAN, H.G.P.; ARP, L.H.; DOMERMUTH, C.H.; PEARSON, J.E. (Ed.). *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens*. 3.ed. Jacksonville: The American Association of Avian Pathologists, 1989. p.12-13.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C.; TURK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p.493-496, 1966.
- 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 septcemic and healthy chickens in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, v.35, n.8, 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. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 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. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.69, n.2, p.1-5, 2002.

- FERREIRA, A.J.P.; KNÖBL, T. Colibacilose aviária. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. (Ed.). *Doenças das aves*. Campinas: FACTA, 2000. p.198-207.
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9.ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1994. p.787.
- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.T.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JUNIOR, W.C. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 4.ed. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1992. 1154p.
- MALIK, Y.S.; CHANDER, Y.; GUPTA, S.C.; GOYAL, S.M. A retrospective study on antimicrobial resistance in *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*, *Escherichia coli*, *Salmonella* species, and *Bordetella avium* from chickens in Minnesota. *Journal of Applied Poultry Research*, v.14, p.506-511, 2005.
- McEWEN, S.A.; FEDORKA-CRAY, P.J. Antimicrobial use and resistance in animals. *Clinical Infectious Diseases*, v.34, n.3, p.93-106, 2002.
- MILES, T.D.; McLAUGHLIN, W.; BROWN, P.D. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens and humans. *Veterinary research*, v.2, n.7, 2006. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/2/7>>.
- SCHROEDER, C.M.; MENG, J.; ZHAO, S.; DEBROY, C.; TORCOLINI, J.; ZHAO, C.; McDERMOTT, P.F.; WAGNER, D.D.; WALKER, R.D.; WHITE, D.G. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, 128, and 145 from animals an humans. *Emerging Infections Diseases*, v.8, n.12, p.1409-1414, 2002.
- SHAREEF, A.M. Prevalence of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from broiler chickens with air sacculitis in Ninevah governorate, 1999-2002. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, v.18, n.1, p.15-26, 2004.
- TRAVERS, K.; BARZA, M. Morbidity of infections caused by antimicrobial-resistant bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, v.34, n.3, p.131-134, 2002.
- VAN DEN BOGAARD, A.E.; LONDON, N.; DRIESSEM, C.; STOBBERINGH, E.E. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.47, p.763-771, 2001.
- ZANATTA, G.F.; KANASHIRO, A.M.I.; CASTRO, A.G.M.; CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; PULICI, S.C.P. Susceptibilidade de amostras de *Escherichia coli* de origem aviária a antimicrobianos. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.71, n.3, p.283-286, 2004.

Recebido em 1/3/09

Aceito em 28/10/10