

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM AVES

TAYNÁ LEAL AFONSO¹; BENITO GUIMARÃES DE BRITO, RENATA KATSUKO
TAKAYAMA KOBAYASHI, LUCIANA KAZUE OTUTUMI; PRISCILA PUPES WEBER²,
KELLY CRISTINA TAGLIARI DE BRITO³

¹Centro Universitário Ritter dos Reis – lealtayna2@gmail.com

²Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor -
benitobrito@gmail.com

Universidade Estadual de Londrina - kobayashirkt@uel.br

Unipar-Umuarama - otutumi@prof.unipar.br

Centro Universitário Ritter dos Reis – pri.pupes@hotmail.com

³Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor kelly-brito@agricultura.rs.gov.br

1. INTRODUÇÃO

De 2016 a 2018 o Brasil ocupou o segundo lugar no ranking mundial como produtor de carne de frango, atualmente sendo o terceiro produtor mundial (ABPA,2022).

Um fato importante é que a carne de frango é considerada a mais ecológica em todos os quesitos de produção, segundo o consumo de água, ração, ocupação de espaço e emissão de gases (ASGAV/SIPARGS, 2012-2013). Esses dados revelam a importância social e econômica da atividade avícola no país e no Rio Grande do Sul.

Os antimicrobianos são usados na avicultura para prevenir e tratar doenças causadas por bactérias e como promotores de crescimento, porém quando usados de forma abusiva, podem causar diversos problemas como a presença de resíduos na carne e transmissão de bactérias resistentes para o ambiente e o homem, com risco potencial à Saúde Pública (COSTA et al.,2011). A abordagem *One Health* – “Saúde Única” trata da projeção e implementação de programas, políticas, legislação e pesquisa para integração entre saúde humana, animal e ambiental.

As áreas relevantes desta abordagem incluem segurança dos alimentos, alimentos seguros, controle de zoonoses e combate a resistência antimicrobiana, que são trabalhados conjuntamente pela Organização Mundial da Saúde/World Health Organization (OMS/WHO), Organização Mundial da Saúde Animal/World Organisation for Animal Health (OIE-WOAH) e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura/Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO (WHO,2017).

2. METODOLOGIA

O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Saúde das Aves e Inovação Tecnológica (LSAIT) do Centro Estadual de Diagnóstico e Pesquisa em Saúde Animal Desidério Finamor (CEPVDF), Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária (DDPA), Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural (SEAPDR), no município de Eldorado do Sul - RS.

a) Cultivo, identificação e armazenamento bacteriano: as amostras bacterianas utilizadas neste estudo foram armazenadas na bacterioteca do LSAIT. Foram avaliadas 45 amostras de *Lactobacillus* sp. isoladas do trato respiratório (traqueia, sacos aéreos e pulmão) de frangos de corte clinicamente saudáveis com 21 dias de idade, criados em condições experimentais (CEUA/IPVDF nº. 01/2015). As amostras foram cultivadas em Tryptic Soy Broth (TSB) a 36 ± 1 °C durante 24 h, semeadas por esgotamento em Ágar

de Man, Rogosa e Sharpe (MRS) e incubadas a 36 ± 1 °C em condições de microaerofilia em jarras de anaerobiose durante 24-48 h.

b) Teste de sensibilidade a antimicrobianos: as 45 amostras de *Lactobacillus* sp. foram avaliadas quanto à sensibilidade a antimicrobianos, utilizados na terapêutica humana e veterinária, através do teste de disco difusão, utilizando discos de papel-filtro impregnados com 33 diferentes drogas.

Os diâmetros dos halos de inibição de crescimento foram analisados e as amostras classificadas como sensível, intermediária ou resistente de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013 e 2018). Para confirmação da eficácia dos discos foi realizada a análise dos mesmos frente à cepa ATCC 25922, sensível a todos os antimicrobianos.

c) Teste fenotípico para ESBL: nas amostras bacterianas foi avaliada a produção fenotípica de ESBL pela técnica de sinergia de disco duplo baseada na inibição da atividade da enzima na presença do ácido clavulânico (EUCAST, 2018). Após semeadura bacteriana, os discos contendo as cefalosporinas (cefotaxima e ceftazidima) foram aplicadas sobre o ágar Müller Hinton respeitando-se a distância de aproximadamente 20 mm entre seus centros de um disco central contendo amoxicilina + ácido clavulânico. As placas foram incubadas em condições de microaerofilia em jarras de anaerobiose durante 16-18h a 36 ± 1 °C e após realizada a leitura dos halos de inibição de crescimento. O teste é considerado positivo quando houver formação de uma zona fantasma (distorção do halo de inibição de crescimento) entre qualquer antimicrobiano marcador e o disco contendo ácido clavulânico.

d) Atividade antagônica (produção de substâncias do tipo bacteriocinas): as amostras bacterianas, não produtoras de ESBL, foram submetidas à avaliação da atividade antagônica direta pelo método da dupla camada, com modificações (AZEVEDO e COSTA, 1973). As amostras cultivadas em TSB a 36 ± 1 °C durante 24 h foram inoculadas em pontos equidistantes em TSA.

Após o crescimento bacteriano a 36 ± 1 °C em condições de microaerofilia em jarras de anaerobioses durante 24h, as placas foram expostas a vapor de clorofórmio durante 30 minutos e, após, permanecem entreabertas durante 60 minutos para evaporação do clorofórmio residual. Após, as placas foram cobertas com TSA semissólido contendo a cepa bacteriana indicadora *E. coli* 22R80, sensível a colicinas, para posterior avaliação dos halos de inibição de crescimento indicativo de atividade antagônica

e) Análises dos dados:

Os resultados obtidos foram analisados através de estatística descritiva e quantitativa (CALLEGARI-JACQUES, 2003).

As bactérias que não produziram ESBL e demonstraram capacidade de produzir substâncias do tipo bacteriocinas, características desejáveis em cepas para composição de probióticos, foram selecionadas para próximas avaliações, no intuito de integrar um protótipo de probiótico para uso na produção avícola.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ajustes ao novo cenário do mercado de produtos de origem animal trabalham com o objetivo de prevenir a ocorrência de enfermidades e no melhoramento do índice zootécnico, visando alternativas que substituam os APCs nas criações de animais de produção. Neste contexto foi inserida esta pesquisa, que permitiu a avaliação de amostras com características desejáveis para composição de probiótico para animais, possuindo característica inovadora.

A seleção de amostras bacterianas da microbiota respiratória de frangos clinicamente saudáveis com potencial para composição de probiótico para aves, permitiu o desenvolvimento de produto inédito na cadeia produtiva aviária inserido no contexto da sustentabilidade e *One Health*.

Por meio da análise de suscetibilidade antimicrobiana verificamos que as amostras de aves selecionadas (45) apresentaram sensibilidade de 70%, taxa intermediária de 5% e resistência de 25% aos antimicrobianos avaliados. Nenhum desses isolados apresentou produção de ESBL, 77,7% apresentou multirresistência, IRMA (índice de resistência múltipla) médio de 0,24, como também, 8,8% das amostras foram produtoras de substâncias do tipo bacteriocinas. Ao término do trabalho, nenhuma das amostras isoladas de origem aviária apresentaram as características desejáveis para a composição de probiótico, como a sensibilidade aos antimicrobianos, não produção de ESBL, não MDR (multirresistência) e atividade bacteriocinogênica, em conjunto.

4. CONCLUSÕES

Os ajustes ao novo cenário do mercado de produtos de origem animal trabalham como objetivo de prevenir a ocorrência de enfermidades e no melhoramento do índice zootécnico, visando alternativas que substituam os APCs nas criações de animais de produção.

Neste contexto foi inserida esta pesquisa, que permitiu a avaliação de amostras com características desejáveis para composição de probiótico para animais, possuindo característica inovadora. A seleção de amostras bacterianas da microbiota respiratória de frangos clinicamente saudáveis com potencial para composição de probiótico para aves, permitiu o desenvolvimento de produto inédito na cadeia produtiva aviária inserido no contexto da sustentabilidade e *One Health*.

A pesquisa colabora com o desenvolvimento científico pois o conhecimento gerado está sendo divulgado em resumos em congressos e salões de iniciação científica e tecnológica, artigos em revistas científicas, além da contribuição na formação de recursos humanos.

A execução dos objetivos deste projeto no desenvolvimento de processos inovadores na agropecuária é de grande relevância e aplicação no setor produtivo animal estando em consonância com as necessidades e abordagens atuais no contexto da saúde única e sustentabilidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2022.**

Disponível em: <https://abpa-br.org/mercados/#relatorios>.

Acesso em: 18/09/2022.

AVICULTURA do Rio Grande do Sul. ASGAV/SIPARGS. Institucional, 2012/2013.

AZEVEDO, J. L.; COSTA, S.O.P. **Exercícios Práticos de Genética.** 3ª ed. São Paulo:

Ed.Nacional; Ed. da Universidade de São Paulo, 1973.

CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística: Princípios e Aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 2003.

CLINICAL and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 23 th informational supplement. CLSI document M100-S23. Malvern/PA-EUA, 2013.

CLINICAL and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 28 th edition. CLSI document M100. Malvern/PA-EUA, 2018.

COSTA, P.M.; OLIVEIRA, M.; RAMOS, B.; BERNARDO, F. The impact of antimicrobial use in broiler chickens on growth performance and the occurrence of antimicrobial resistant *Escherichia coli*. **Livestock Science**, Foulum, v. 136, p. 262- 269, 2011.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST, 2018.
Disponível em: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
Acesso em: 24/11/2018.

FOOD and Agriculture Organization of the United Nations - FAO.2016.

WORLD Health Organization - WHO. 2017.
Disponível em: <http://www.who.int/features/qa/one-health/en/>
Acesso em: 30 de agosto de 2017.