

Avaliação da presença de *Escherichia coli* em órgãos de frangos de corte aparentemente saudáveis

Lorena Moreira Pires Rosa¹(IC), Eliete Souza Santana²(PQ), Daniella Rodrigues da Costa³(PQ), Fillipe Kennedy Alves Cantareli⁴(IC)

^{1,4}Estudante Iniciação Científica, Universidade Estadual de Goiás, loreninham18@gmail.com; ^{3,4}Pesquisadores, Universidade Estadual de Goiás

Resumo: Foi realizado um estudo para investigar a presença de *E. coli* em fígados, baços e corações de frangos de corte aparentemente saudáveis, além de avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana desta bactéria frente a antibióticos importantes para avicultura. Para tanto foram coletadas 150 amostras, sendo 50 de fígados, 50 de baços e 50 de corações. Nas análises bacteriológicas, em 23,33% das amostras houve crescimento de *E. coli*, sendo 48,58% delas no fígado, 28,57% no baço e 22,85% no coração. Posteriormente, estas amostras foram submetidas ao teste de perfil de sensibilidade a diferentes antibióticos e com auxílio dos Testes de Qui-Quadrado e Exato de Fisher foi possível determinar que as amostras de *E. coli*, apresentaram a seguinte porcentagem de resistência ao antimicrobianos: sulfonamidas (71,43%), tetraciclina (60,00%), amoxicilina, cefalexina e gentamicina apresentaram os mesmos percentuais de resistência (57,14%), enrofloxacina (54,29%, sulfametoxazol-trimetropim (28,57%) e ciprofloxacina (22,86%). Nas condições deste estudo, observa-se que a resistência da *E. coli* a base antimicrobiana é elevada, o que reforça a necessidade das boas práticas agropecuárias e de fabricação, além da necessidade da educação sanitária do consumidor para evitar a contaminação de produtos à base de carne de frango, a fim de evitar futuras dificuldades de tratamento antimicrobiano.

Palavras-chave: Antimicrobianos. Aves. Bactérias. Microbiologia. Sensibilidade.

Introdução

Desde a década de 60, a indústria avícola brasileira vem ganhando força, e fez com que o Brasil se tornasse um complexo agroindustrial referenciado em todo mundo, reforçando a necessidade de atenção em seu processo produtivo, pois a carne de aves, pode ser contaminada em qualquer parte da produção e os patógenos contaminantes podem sobreviver até o consumo do produto final, causando prejuízos econômicos e danos à saúde do consumidor (FLORES e MELO, 2015).



A possibilidade de contaminação por diversos tipos de microrganismos, incluindo *Escherichia coli*, pode se dar através de equipamentos e utensílios, anteriormente já contaminados, sendo responsável por causar perdas elevadas no setor avícola. Outra forma de contaminação, que deve ser levada em consideração, por também refletir na elevação dos patógenos, é a translocação bacteriana da microbiota intestinal para outros órgãos, causada por fatores estressantes no manejo pré-abate (BURKHOLDER et al., 2008). Além do mais, até a prática rotineira das granjas e abatedouros avícolas, podem alterar a microbiota intestinal, conforme descrito por Rodrigues et al. (2016).

Existe preocupação no tocante a saúde pública, haja vista, que a *E. coli* pode ser fonte de doenças transmitidas por alimentos e diversos estudos comprovam a participação da mesma em doenças ligadas a humanos, tais como: infecções hospitalares, doenças urinárias, septicemia, além de meningite em recém-nascidos (STROMBERG et al., 2017).

Outro ponto chave é o uso de antibióticos que são utilizados na prevenção e tratamento de doenças das aves ou como promotores de crescimento, procedimentos que fizeram com que o uso de antibióticos na avicultura se tornasse um problema de saúde pública, haja vista, que a população ingere indiretamente estes antimicrobianos, através dos alimentos (CARDOSO et al., 2015).

De acordo com Zhao et al. (2012), a *E. coli* tem a capacidade de adquirir, manter e transmitir genes de resistência, tendo como consequência, a resistência antimicrobiana de outros seres vivos, inicialmente contaminados com a bactéria, e o grau de resistência antimicrobiana pode comprometer um tratamento futuro, tanto em animais, quanto em humanos.

Material e Métodos

Comitê de ética

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de ética da Universidade Estadual de Goiás (CEUA-UEG), com o protocolo nº 005/2016.

Coleta das amostras

Foram coletadas 50 amostras de fígado, 50 amostras de baços e 50 amostras de corações de frangos de corte aparentemente saudáveis em linhas de

abates durante o processo de evisceração em abatedouros frigoríficos sob o sistema de inspeção da defesa agropecuária do Estado de Goiás (Agrodefesa).

Cultivo e isolamento bacteriano

Para pesquisa de *Escherichia coli*, fragmentos de cada órgão foram maceradas e processadas de acordo com o descrito por Georgia Poultry Laboratory (1997) e Brasil (2003). Amostras de fígados, baços e corações foram colocados em tubos de ensaio contendo 9,0 mL de caldo de selenito cistina e tubos de ensaio com 9,0 mL de caldo Rappaport Vassiliadis, os quais foram incubados em estufa a 37° C por 18-24 horas. Com o auxílio da alça de níquel cromo foi retirada alíquotas dos caldos Rappaport Vassiliadis e caldo selenito cistina as quais foram estriadas por esgotamento nos ágar xylose lysine tergitol 4 (XLT4) e ágar verde brilhante (VB).

A partir do crescimento de colônias típicas e atípicas, segundo Brasil (2003) e KONEMAN (2010), de três a cinco colônias foram transferidas para tubos contendo tríplex açúcar ferro (TSI), os quais foram incubados a 37° C por 24 horas. Tubos de TSI com crescimento sugestivo de *E. coli* foram submetidos aos testes de bioquímica, para verificação da produção de indol e vermelho de metila, motilidade, produção de H₂S, urease e reação no citrato de Simmons, para confirmação da bactéria.

Teste de sensibilidade a antimicrobianos

Foi utilizado o teste descrito por CLSI (2017). O teste consistiu em aplicar com suabe esterilizado, a *Escherichia coli* isolada dos diferentes órgãos em toda a superfície de uma placa de Petri de 90 mm contendo ágar Muller Hinton. Após um período de até 15 minutos, foram utilizados discos impregnados com os seguintes antimicrobianos: amoxicilina (20 mg), cefalexina (30 mg), ciprofloxacina (5 mg), enrofloxacina (5 mg), gentamicina (10 mg), sulfametoxazol-trimetropim (25 mg), sulfonamida (250 mg) e tetraciclina (30 mg) sobre a placa semeada.

As placas foram incubadas por 18 a 24 horas em estufa bacteriológica com temperatura de 37°C. Após a incubação, os diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano ao redor de cada disco foram mensurados em milímetros,

para determinação da sensibilidade da amostra bacteriana. Os halos foram interpretados nas categorias sensível, intermediário ou resistente de acordo com Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017). Foram escolhidos estes pois são importantes na medicina veterinária e em saúde pública.

Análises estatísticas

Os dados foram tabulados e analisados pelos testes Qui-Quadrado e Exato de Fisher.

Resultados e Discussão

Conforme observado na Tabela 1, *E. coli* estavam presentes nas amostras de fígado, baço e coração, em 17/35 (48,57%), em 10/35 (28,57%), e em 8/35 (22,85%), respectivamente (Tabela1).

Tabela 1 – Frequência absoluta e percentual de aparecimento da *E. coli* em fígados, baços e corações de frangos de corte aparentemente saudáveis.

Órgão	<i>E. coli</i> – N	%	Valor -p
Fígado	17/35	48,57%	0,048 ¹
Baço	10/35	28,57%	
Coração	8/35	22,85%	

¹ Teste Qui-Quadrado.

As análises estatísticas ($p \leq 0,05$), demonstraram que quanto maior a frequência da bactéria presente no fígado, maior é a possibilidade de tal patógeno estar presente nas outras vísceras analisadas. Em estudo semelhante, Alonso et al. (2012) ao pesquisarem a *E. coli* em vísceras de frangos de corte, observaram que 43% foram positivas para o crescimento do microrganismo citado.

Em trabalho desenvolvido com o objetivo de verificar a correlação existente entre a inspeção visual do fígado e a presença de *E. coli* em fígados de frangos provenientes de matadouros avícolas, Silva et al. (2012), isolaram o microrganismo em 45,5% dos fígados coletados. Consideraram assim, os critérios de condenação das carcaças inadequados, haja vista a elevada presença de *E. coli* nas amostras de fígados oriundos de carcaças consideradas próprias para o consumo humano, o que

sugere que a inspeção visual de fígados em matadouros avícolas, não é suficiente para descartar carcaças contaminadas com *E. coli*.

A presença de *E. coli* nos fígados, aparentemente, saudáveis é preocupante, uma vez que o órgão está envolvido nas infecções hematógenas, por receber tanto sangue arterial, quanto sangue venoso do trato gastrointestinal. Assim, a infecção do fígado pode ser primária, ou fazer parte de um processo sistêmico (MACLACHLAN & CULLEN, 1998), como observado em processos, em que a *E. coli* também foi isolada em outros órgãos, como os baços e corações analisados.

Paralelamente aos estudos bacteriológicos, as 35 amostras positivas para *E. coli* foram submetidas ao teste de sensibilidade a antimicrobianos, das quais 17 amostras foram de fígados, dez de baços e oito de corações (Tabelas 2, 3 e 4).

Tabela 2 – Comparação entre os perfis de sensibilidade antimicrobiana das *E. coli* presentes nos fígados de frangos de corte aparentemente saudáveis.

Antibióticos	Sensível/Intermediário	Resistente	Valor- p ¹
Amoxicilina	6/17 (35,30%)	11/17 (64,70%)	0,089 ¹
Cefalexina	7/17 (41,17%)	10/17 (58,83%)	
Ciprofloxacina	12/17 (70,59%)	5/17 (29,41%)	
Enrofloxacin	7/17 (41,17%)	10/17 (58,83%)	
Gentamicina	6/17 (35,29%)	11/17 (64,71%)	
Sulfametoxazol-Trimetopim	9/17 (52,94%)	8/17 (47,06%)	
Sulfonamidas	6/17 (35,29%)	11/17 (64,71%)	
Tetraciclina	3/17 (17,65%)	14/17 (82,35%)	

¹ Teste Qui-Quadrado

Desta maneira, pode-se observar que houve uma diferença marginalmente significativa (valor-p=0,089) entre os perfis de sensibilidade dos antimicrobianos testados e a tetraciclina foi a base farmacológica de maior resistência, seguida pela amoxicilina, gentamicina e sulfonamida. Cabe ressaltar, que o termo “marginalmente significativo” se refere à situação na qual o valor-p não foi significativo ao nível de 5% de significância, mas ficou próximo de ser, sendo ele significativo ao nível de 10%.

Tabela 3 – Comparação entre os perfis de sensibilidade antimicrobiana das *E. coli* presentes nos baços de frangos de corte aparentemente saudáveis.

Variáveis	Sensível/Intermediário	Resistente	Valor- p ¹
Amoxicilina	1/10 (10%)	9/10 (90%)	0,001



Cefalexina	1/10 (10%)	9/10 (90%)
Ciprofloxacina	8/10 (80%)	2/10 (20%)
Enrofloxacin	4/10 (40%)	6/10 (60%)
Gentamicina	2/10 (20%)	8/10 (80%)
Sulfametoxazol-Trimetropim	8/10 (80%)	2/10 (20%)
Sulfonamidas	1/10 (10%)	9/10 (90%)
Tetraciclina	4/10 (40%)	6/10 (60%)

¹ Teste Qui-Quadrado simulado

Assim, pode-se observar que houve diferença significativa (valor-p=0,001), entre os perfis de sensibilidade dos antimicrobianos testados e que amoxicilina, cefalexina e sulfonamidas são as bases que apresentaram maior perfil de resistência antimicrobiana.

Tabela 4 – Comparação entre os perfis de sensibilidade antimicrobiana das *E. coli* presentes nos corações de frangos de corte aparentemente saudáveis.

Variáveis	Sensível/Intermediário	Resistente	Valor- p ¹
Amoxicilina	8/8 (100%)	0/8 (0%)	0,085
Cefalexina	7/8 (87,5%)	1/8 (12,5%)	
Ciprofloxacina	7/8 (87,5%)	1/8 (12,5%)	
Enrofloxacin	5/8 (62,70%)	3/8 (37,5%)	
Gentamicina	7/8 (87,5%)	1/8 (12,5%)	
Sulfametoxazol-Trimetropim	8/8 (100%)	0/8 (0%)	
Sulfonamidas	3/8 (37,5%)	5/8 (62,5%)	
Tetraciclina	7/8 (87,5%)	1/8 (12,5%)	

¹ Teste Exato de Fisher.

Assim, pode-se observar que houve diferença marginalmente significativa (valor-p=0,085) entre os perfis de sensibilidade dos antimicrobianos testados, sendo a sulfonamida, a base medicamentosa de maior resistência.

Tabela 5 – Comparação entre os perfis de sensibilidade antimicrobiana das *E. coli* presentes em todos os órgãos.

Variáveis	Sensível/ Intermediário	Resistente	Valor- p ¹
Amoxicilina	15/35 (42,86%)	20/35 (57,14%)	<0,001
Cefalexina	15/35 (42,86%)	20/35 (57,14%)	
Ciprofloxacina	27/35 (77,14%)	8/35 (22,86%)	
Enrofloxacin	16/35 (45,71%)	19/35 (54,29%)	



Gentamicina	15/35 (42,86%)	20/35 (57,14%)
Sulfametoxazol-Trimetropim	25/35 (71,43%)	10/35 (28,57%)
Sulfonamidas	10/35 (28,57%)	25/35 (71,43%)
Tetraciclina	14/35 (40,00%)	21/35 (60,00%)

¹ Teste Qui-Quadrado

Após análise dos dados, foi possível notar que houve uma associação significativa ($p \leq 0,05$), entre o perfil de resistência e o antimicrobiano utilizado, sendo que, no comparativo entre as *E. coli* encontradas nos fígados, baços e corações, os antimicrobianos mais resistentes foram sulfonamidas e tetraciclina. A resistência bacteriana a múltiplas bases medicamentosas é um problema, haja vista que tais bases foram adicionadas a alimentação animal com objetivo de melhoria do desempenho além de redução da mortalidade (CARDOSO et al., 2015).

Neste experimento, 71,43% das amostras analisadas foram resistentes para sulfonamidas, 60,00% apresentou resistência para tetraciclina, 57,14% apresentaram resistência a amoxicilina, cefalexina e gentamicina, 54,29% apresentaram resistência a enrofloxacina, 28,57% a sulfametoxazol-Trimetropim e 22,86% ao ciprofloxacina. Resultados diferentes foram encontrados por CARDOSO et al. (2015), que descreveram a amoxicilina como a base que apresentou maior resistência (96,7%), enrofloxacina (88,3%), tetraciclina 71,7%, sulfametoxazol/trimetropim 58,3% e gentamicina 48,3%.

Da Costa Abreu et al. (2010), realizaram estudo em 180 codornas sadias e sem sintomatologia clínica de doenças e sem lesões macroscópicas de doenças respiratórias, porém a ausência de lesões não excluiu a presença da *E. coli* no organismo das aves. Desta forma, das 180 análises em 20 foram isoladas *E. coli*, das quais 80% dos isolados foram resistentes a tetraciclina, 65% a ceftazidima (13), 60% ao ácido nalidíxico (12) e apenas 5% foram resistentes a amoxicilina. Este resultado pode indicar o potencial patogênico das cepas encontradas em aves, além de alertar para o risco de saúde pública, caso estes animais tenham contato com o ser humano, seja por contato direto ou na forma de alimentos.

Assim, é possível observar que o patógeno em questão prontamente pode adquirir resistência aos mais comuns antimicrobianos utilizados e o frango de corte é



uma relevante fonte de propagação de resistência antimicrobiana a amostras de *E. coli*, sendo que o uso descuidado desta bases farmacêuticas acarretam na seleção natural de patógenos mais resistentes, com perda futura de eficácia do medicamento nas ocorrências de infecções futuras por este patógeno, haja vista que esta resistência pode ser transferida para outros microrganismos, e assim prejudicar o tratamento de infecções bacterianas (WANG et al., 2016).

Evidencia-se nesse estudo, que devido à presença da *E. coli*, mesmo em animais aparentemente saudáveis e que apresentam vísceras macroscopicamente normais, e que apresenta resistência a bases antimicrobianas utilizadas na rotina da avicultura, que tais medicamentos deverão ser utilizados com maior critério, somente em tratamentos de infecções e não como promotores de crescimento, evitando assim o desencadeamento de alergias, resistências e toxidades ao homem.

Dentre as perdas econômicas em plantas industriais, devido condenação parcial ou total a doença mais corriqueira em abatedouro avícolas, causada pela *E. coli* é a colibacilose. Esta doença é responsável por cerca de 30% das condenações neste ambiente (DE OLIVEIRA ALMEIDA et al., 2018).

Considerações Finais

Apesar dos órgãos não apresentarem lesões macroscópicas, quando as vísceras foram submetidas ao cultivo bacteriológico, em 23,33% das amostras houve crescimento de *E. coli*, sendo que sua ocorrência no fígado, aumenta a probabilidade da ocorrência em outros órgãos.

Quanto ao perfil de sensibilidade das bases antimicrobianas testadas frente a *E. coli*, existe diferença significativa entre elas, sendo que a sulfonamida e a tetraciclina foram os fármacos de maior resistência. É válido destacar, que as *E. coli* encontradas em cada órgão apresentaram diferentes perfis de resistência, porém, aqueles todas as cepas de *E. coli* testadas apresentaram resistência as sulfonamidas.

Os resultados demonstram o possível potencial patogênico dos alimentos que têm como base a carne de frango, justificando assim, a implantação de monitoramento microbiológico na produção de alimentos à base de carne de frango.

Agradecimentos





À Universidade Estadual de Goiás, pelo espaço e materiais concedidos para a realização desse trabalho e também pela bolsa de iniciação científica.

Referências

ALONSO, M. Z.; LUCCHESI, P. M. A.; RODRÍGUEZ, E. M.; PARMA, A. E.; PADOLA, N. L. Enteropathogenic (EPEC) and Shigatoxigenic *Escherichia coli* (STEC) in broiler chickens and derived products at different retail stores. **Food Control**, Guildford/Inglaterra, v.23, p. 351-355, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional da Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Animal. Coordenação Geral de Laboratório Animal. **Métodos de Análises Microbiológicas para Alimentos**, Brasília: MAPA, 2003, 226p.

BURKHOLDER, K.M.; THOMPSON, K. L.; EINSTEIN, M. E.; APPLGATE, T. J.; PATTERSON, J. A. Influence of stressors on normal intestinal microbiota, intestinal morphology, and susceptibility to *Salmonella* Enteritidis colonization in broilers. *Poultry Science*, Oxford/Reino Unido, v. 87, n. 9, p. 1734-1741, 2008.

CARDOSO, A. L. S. P., KANASHIRO, A. M. I., STOPPA, G. F. Z., DE CASTRO, A. G. M., LUCIANO, R. L.; TESSARI, E. N. C. Avaliação do perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isolada de aves comerciais. **Nutritime Revista Eletrônica**, Viçosa/MG, v. 12, p. 4216-4222, 2015.

CHEN, F., GAO, L., & MENG, P. Gene Phenotypes: The Role Can't Be Ignored in Etiology of Dental Caries. **EBioMedicine**, v.27, p.9–10, 2017.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE/NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Information Supplement. **CLSI/NCCLS document M 100-S15**. Wayne, PA. USA

DA COSTA ABREU, D. L., FRANCO, R. M., DO NASCIMENTO, E. R., DE ALMEIDA PEREIRA, V. L., ALVES, F. M. X.; DE ALMEIDA, J. F. Perfil de sensibilidade antimicrobiana e detecção do gene ISS pela reação em cadeia da polimerase na tipificação de *Escherichia coli* patogênica em codornas de corte sob inspeção sanitária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica/RJ v. 30, p. 406-410, 2010.

DE OLIVEIRA ALMEIDA, T. J., DE ASSIS, A. S., MENDONÇA, M.; DE QUEIROZ ROLIM, M. B. Causas de condenação de carcaças de *Gallus gallus domesticus* em abatedouros frigoríficos sob Inspeção Federal no Nordeste do Brasil. **Medicina Veterinária** (UFRPE), Recife/PE, v.11, p. 285-291, 2018.

REALIZAÇÃO

PRG
Pró-Reitoria de
Graduação

PRP
Pró-Reitoria de
Pesquisa e
Pós-Graduação

PRE
Pró-Reitoria de
Extensão, Cultura e
Assuntos Estudantis



Universidade
Estadual de Goiás



FLORES, A. M. P. C.; MELO, C. B. Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro/RJ, v.37, n.1, p.65-72, 2015.

GEORGIA POULTRY LABORATORY. **Monitoring and detection of *Salmonella* in poultry and poultry environments**. Oakwood: Georgia Poultry Laboratory, 1997, 293p. [Workshop].

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. A.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido**. Ed. 5. Rio de Janeiro: Medsi, 2010.

MACLACHLAN, N.J.; CULLEN, J.M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: THOMSON, R.G. (Ed.). **Patologia Veterinária Especial**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, p.265-298, 1998.

RODRIGUES, D. R; SANTOS, R. B; DE ARAÚJO, E. G; CAFÉ, M. B. Jejum pré-abate e suas implicações no metabolismo animal, integridade intestinal e qualidade da carne de frangos de corte. **Enciclopédia Bioesfera**, Goiânia/GO, p.1-15, 2016.

SILVA, I. M. M.; BALIZA, M.; SANTOS, M. Presença de *Escherichia coli* em fígados de frangos provenientes de matadouros avícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador/BA, v. 13, n. 3, p. 694-700, jul./set., 2012.

WANG, Y.; TANG, C.; YU, X. H.; XIA, M. Y.; YUE, H. Distribution of serotypes and virulence-associated genes in pathogenic *Escherichia coli* isolated from ducks. **Avian Pathology**, v.39, p.297-302, 2016.

ZHAO, S., K. BLICKENSTAFF, S. BODEIS-JONES, S. GAINES, E. TONG; P. MCDERMOTT. Comparison of the prevalences and antimicrobial resistances of *Escherichia coli* isolates from different retail meats in the United States, 2002 to 2008. **Applied and Environmental Microbiology**. Nova York/EUA, v.78, p. 1701-1707, 2012.

CHEN, F., GAO, L., & MENG, P. Gene Phenotypes: The Role Can't Be Ignored in Etiology of Dental Caries. **EBioMedicine**, v.27, p.9–10, 2017.