

Comunicação

[Communication]

**Resistência antimicrobiana em *Salmonella* Enteritidis isoladas de amostras clínicas e ambientais de frangos de corte e matrizes pesadas**

[Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis isolated from clinical and environmental broiler chickens and breeders broiler]

A.R. Ribeiro<sup>1\*</sup>, A. Kellermann<sup>1</sup>, L.R. Santos<sup>2</sup>, V.P. Nascimento<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária - (CDPA) - UFRGS  
Rua Bento Gonçalves, 8824  
91540-000 - Porto Alegre, RS

<sup>2</sup>Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - UPF – Passo Fundo, RS

No passado, *Salmonella* Pullorum e *Salmonella* Gallinarum foram as principais causadoras de problemas nas galinhas; porém, devido a programas de erradicação, elas foram praticamente eliminadas (Pomeroy e Nagaraja, 1991; Snoeynbos e Williams, 1991). Baumler et al. (2000) postularam que, devido à erradicação dessas salmonelas, abriu-se um nicho que foi ocupado por *Salmonella* Enteritidis, uma vez que tanto esta como *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum pertencem ao sorogrupo D1, indicando similaridade de cadeia lipopolissacarídica.

No Brasil, dentre os microrganismos isolados de aves portadoras e doentes provenientes de diversas regiões durante o período de 1961 a 1991, predominaram *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Pullorum, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Heidelberg, *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Infantis (Hofer et al., 1997). Contudo, em amostras isoladas no quinquênio 1992 - 1996, predominou *Salmonella* Enteritidis, (Solari et al., 1997), fato este que se manteve entre julho de 1997 e dezembro de 2004 (Kanashiro et al., 2005).

Em medicina veterinária, os agentes antimicrobianos são utilizados de forma terapêutica, metafilática, profilática e como promotores de crescimento (Scharwz et al., 2001). Como exemplo de forma preventiva, tem-

se a apreçoada por Goren (1994), que recomenda combinar medicamentos e microbiota intestinal, como ferramenta para controle de *Salmonella* Enteritidis em aves. Situações como estas têm provocado, nesses microrganismos, aumento da resistência a agentes antimicrobianos.

O presente estudo foi realizado com a finalidade de avaliar a resistência a agentes antimicrobianos de 79 amostras de *S. Enteritidis* isoladas de espécimes clínicas de frangos de corte e matrizes pesadas (n=39) e de amostras do ambiente (swabs de arrasto), provenientes de aviários de frango de corte e de matrizes pesadas (n=40), produzidos na região Sul do Brasil, nos anos de 1999 (n=31), 2000 (n=29) e 2001 (n=19), utilizando-se metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para detecção de *Salmonella* spp. (Brasil, 1995). A caracterização antigênica e a identificação do sorovar foram realizadas pelo Laboratório de Bactérias Entéricas do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

As amostras de *S. Enteritidis* foram submetidas a testes de sensibilidade conforme técnica do NCCLS (Performance..., 2003), com a utilização de discos impregnados com os seguintes agentes antimicrobianos: ampicilina, 10µg; ácido nalidixico, 30µg; ciprofloxacina, 5µ; cloranfenicol, 30µ; enrofloxacina, 5µ; gentamicina, 10µ; canamicina, 30µ;

---

Recebido em 8 de outubro de 2007

Aceito em 25 de agosto de 2008

E-mail: aldemir\_r@yahoo.com

nitrofurantoína, 300µ; norfloxacina, 10µ; polimixina B, 300IU; estreptomicina, 10µg e tetraciclina 30µg. *Escherichia coli* ATCC 25922 foi utilizada como amostra de referência.

Os resultados indicam que 82,3% (65/79) das amostras de *S. Enteritidis* foram resistentes a um ou mais agentes antimicrobianos utilizados, apresentando 19 padrões de resistência (Tab. 1). Dentre as 65 amostras de *S. Enteritidis* resistentes, 43 (66,1%) apresentaram resistência a dois ou mais agentes antimicrobianos e 22 (33,8%) a somente um. Destas, 16 foram resistentes à tetraciclina, três ao ácido nalidíxico, duas à nitrofurantoína e uma à gentamicina.

Resistência à tetraciclina foi observada em 53 amostras (67,1%) de *S. Enteritidis* (Tab. 2). Esse resultado é mais alto que o encontrado por Antunes et al. (2003), em amostras de *Salmonella* spp. isoladas de produtos de aves no Porto, Portugal (36%), porém menor que os obtidos por Cortez et al. (2006) em amostras de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves no estado de São Paulo (72,4%), por Ribeiro et al. (2007), em *Salmonella* spp. isoladas de cortes de frango no estado do Rio Grande do Sul (84%).

Tabela 1. Distribuição dos padrões de resistência de 79 amostras de *Salmonella* Enteritidis isoladas de aves e ambientes de aviários na Região Sul do Brasil

Padrão de resistência*	Nº
Gen	1
Nal	3
Nit	2
Tet	16
Gen, Str	2
Gen, Tet	1
Nal, Tet	5
Nit, Tet	13
Enr, Nal, Tet	3
Gen, Nal, Str	2
Gen, Str, Tet	4
Nal, Nit, Tet	3
Amp, Gen, Nit, Str	1
Cip, Enr, Nal, Tet	3
Gen, Nal, Nit, Str	1
Gen, Nal, Str, Tet	3
Gen, Nit, Str, Tet	1
Enr, Gen, Kan, Nal, Nal, Str, Tet	1

\*14 amostras foram sensíveis aos antimicrobianos testados.

Gen: gentamicina; Nal: ácido nalidíxico; Nit: nitrofurantóina; Tet: tetraciclina; Str: estreptomicina; Enr: enrofloxacina; Amp: ampicilina; Cip: ciprofloxacina; Kan: kanamicina

Tabela 2. Resistência antimicrobiana em amostras de *S. Enteritidis* isoladas de aves e ambientes de aviários da Região Sul do Brasil

Ano	Amostras testadas	Amostras resistentes (%)											
		Amp	Cip	Chl	Enr	Gen	Kan	Nal	Nit	Nor	PB	Str	Tet
1999	32	1 (3,1)	0	0	0	5 (15,6)	0	6 (18,7)	10 (31,2)	0	0	5 (15,6)	24 (75)
2000	28	0	1 (3,6)	0	3 (10,7)	5 (17,8)	0	8 (28,5)	5 (17,8)	0	0	5 (17,8)	17 (60,7)
2001	19	0	2 (10,5)	0	4 (21)	8 (42,1)	1 (5,2)	10 (52,6)	6 (31,6)	0	0	6 (31,6)	12 (63,1)
Total	79	1 (1,2)	3 (3,8)	0	7 (8,8)	18 (22,8)	1 (1,2)	24 (30,4)	21 (26,6)	0	0	16 (20,2)	53 (67,1)

Amp: ampicilina; Cip: ciprofloxacina; Chl: cloranfenicol; Enr: enrofloxacina; Gen: gentamicina; Kan: kanamicina; Nal: ácido nalidíxico; Nit: nitrofurantóina; Nor: norfloxacina; PB: polimixina B; Str: estreptomicina; Tet: tetraciclina

Com relação à estreptomicina, 20,2% das amostras foram resistentes, resultado menor que os 25,4% relatados por Bokanyi Jr. et al. (1990) em *Salmonella* spp. isoladas de carcaças e cortes de aves nos Estados Unidos.

A elevada ocorrência de amostras resistentes à tetraciclina e à estreptomicina pode ser explicada pela difusão dos genes de resistência *strA-strB* e *tet(A)*, como observado por Pezzella et al.

(2004), em estudo com amostras de *Salmonella* spp. isoladas de animais na Itália.

Encontrou-se baixa resistência à nitrofurantóina, 26,6%, quando comparada com os 95% descritos por Cardoso et al. (2006) em amostras de *S. Enteritidis* isoladas de carcaças de frango entre maio de 1995 e abril de 1996, no Rio Grande do Sul.

Resistência aos aminoglicosídeos, gentamicina e canamicina, apresentada pelas amostras de *S. Enteritidis*, foram 21,5% e 1,2%, respectivamente. No Canadá, Poppe et al. (1996), em *Salmonella* spp. isoladas de aves, verificaram que somente 7,7% delas apresentaram resistência à gentamicina e, com relação à canamicina, Carramiñana et al. (2004) observaram somente 2,8% de resistência de amostras *S. Enteritidis* isoladas em um matadouro frigorífico na Espanha.

A resistência às quinolonas é determinada, fundamentalmente, por mecanismos mediados por alterações no cromossomo, alteração nos sítios de ligação da DNA *gyrase* e diminuição no acúmulo do agente no interior da bactéria (Pidcock, 2002; Ruiz, 2003).

Elementos móveis que carregam o gene *qnr* também têm sido descritos como responsáveis por conferir resistência às quinolonas, sendo que estes apresentam um agravante, o fato de terem o potencial de transferir de forma horizontal os genes de resistência (Ruiz, 2003).

Portanto, os resultados obtidos para o ácido nalidíxico (30,4%), enrofloxacina (8,8%) e ciprofloxacina (2,5%) são preocupantes, pois estudos recentes têm detectado aumento de amostras de *Salmonella* spp. resistentes às quinolonas na Alemanha (Malorny et al., 1999), Inglaterra e País de Gales (Threlfall et al., 2000) e Espanha (Marinón et al., 2004). Não foram observadas amostras resistentes à norfloxacina.

Pode-se concluir que há alta porcentagem de amostras de *S. Enteritidis* resistentes à tetraciclina, que o monitoramento contínuo é necessário na indústria avícola e que há necessidade de uso responsável dos agentes antimicrobianos, baseado na compreensão da ecologia da resistência, da transmissão de bactéria resistente e de genes de resistência e da relação entre o uso do antimicrobiano e o aumento da resistência (Turnidge, 2004).

Palavras-chave: ave, *Salmonella* Enteritidis, resistência antimicrobiana

#### ABSTRACT

*The antimicrobial resistance of Salmonella Enteritidis strains isolated from clinical and environmental poultry samples in the Southern Brazil during the years of 1999, 2000 and 2001 was evaluated. Among the 79 isolated samples, 64 (81%) were resistant to at least one of the antimicrobial agents tested, showing 22 different resistance patterns. Tetracycline showed the highest percentage (64,5%) of resistance among the antimicrobial agents used. Resistance to drugs at different levels was found as the following: ampicillin (1.2%), kanamycin (1.2%), ciprofloxacin (2.5%), enrofloxacin (8.8%), gentamicin (21.5%), streptomycin (20.2%), nitrofurantoin (26.6%), and nalidixic acid (30.4%). None of the S. Enteritidis strains were resistant to chloramphenicol, norfloxacin, and polymyxin B. Among the 64 S. Enteritidis strains that showed resistance, 43 (67.2%) were resistant to two or more antimicrobial agents. Twenty-one (32.8%) strains were resistant to only one of the antimicrobial agents, 14 to tetracycline, three to nalidixic acid, three to nitrofurantoin, and one to gentamycin. These antimicrobial resistance levels suggest a high occurrence of tetracycline resistant S. Enteritidis strains and resistance to two or more antimicrobial agents.*

*Keywords: poultry, Salmonella Enteritidis, antimicrobial resistance*

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, P.; RÉU, C.; SOUZA, J.C. et al. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *Int. J. Food Microbiol.*, v.82, p.97-1003, 2003.

BAUMLER, A.J.; HARGIS, B.M.; TSOLIS, R.M. Tracing the origins of *Salmonella* outbreaks. *Science*, v.287, p.50-52, 2000.

BOKANYI Jr., R.P.; STEPHENS, J.F.; FOSTER, D.N. Isolation and characterization of *Salmonella* from broiler carcasses or parts. *Poult. Sci.*, v.69, p.592-598, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 126, de 06 de novembro de 1995. Normas para diagnóstico das salmoneloses aviárias. Anexo I – Descrição das técnicas/métodos bacteriológicos e sorológicos para diagnóstico das

- salmoneloses aviárias. (*S. Enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* e *S. Typhimurium*). *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 06 nov.1995, Seção 1, n.212, p.17694-17698.
- CARDOSO, M.O.; RIBEIRO, A.R.; SANTOS, L.R. et al. Antibiotic resistance in *Salmonella* Enteritidis isolated from broiler carcasses. *Braz. J. Microbiol.*, v.37, p.299-302, 2006.
- CARRAMIÑANA, J.J.; ROTA, C.; AGUSTÍN, I. et al. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. *Vet. Microbiol*, v.104, p.133-139, 2004.
- CORTEZ, A.L.L.; CARVALHO, A.C.F.B.; IKUNO, A.A. et al. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves. *Arq. Inst. Biol.*, v.73, p.157-163, 2006.
- GOREN, E. Combinación de la aplicación de medicamentos y microflora intestinal como una herramienta em el tratamiento de las infecciones por *Salmonella enteritidis* em Aves. In: CURSO DE ACTUALIZACION SOBRE EL CONTROL Y PREVENCION DE LA INFECCION POR *Salmonella enteritidis*, 1., 1994, México. *Anais...* México: ANECA, 1994. p.13-26.
- HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F.R. Prevalência de serovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.17, p.55-62, 1997.
- KANASHIRO, A.M.I.; STOPPA, G.F.Z.; CARDOSO, A.L.S.P. et al. Serovars of *Salmonella* spp. isolated from broiler chickens and commercial breeders in diverse regions in Brazil from July 1997 to December 2004. *Braz. J. Poult. Sci.*, v.7, p.195-198, 2005.
- MALORNY, B.; SCHROETER, A.; HELMUTH, R. Incidence of quinolones resistance over the period 1986 to 1998 in veterinary *Salmonella* isolates from Germany. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.43, p.2278-2282, 1999.
- MARIMÓN, J.M.; GOMÁRIZ, M.; ZIGORRAGA, C. et al. Increasing prevalence of quinolone resistance in human nontyphoid *Salmonella enterica* isolates obtained in Spain from 1981 to 2003. *Antimicrob. agents chemother.*, v.48, p.2789-3793, 2004.
- PERFORMANCE standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard. 8.ed. Wayne: NCCLS, 2003 (document M2-A8).
- PEZZELLA, C.; RICCI, A.; DIGIANNATALE, E. et al. Tetracycline and streptomycin resistance genes, transposons, and plasmids in *Salmonella enterica* isolated from animals in Italy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, p.903-908, 2004.
- PIDDOCK, L.J.V. Fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serovars isolated from human and food animals. *FEMS Microbiol. Rev.*, v.26, p.3-16, 2002.
- POMEROY, B.S.; NAGARAJA, K.V. Fowl Typhoid. In: CALNEK, B.W. (Ed). *Disease of poultry*. 9.ed. Ames: Iowa State University, 1991. p.87-99.
- POPPE, C.; McFADDEN, K.S.; DEMCZUK, W.H.B. Drug resistance, plasmids, biotypes and susceptibility to bacteriophages of *Salmonella* isolated from poultry in Canada. *Int. J. Food Microbiol.*, v.30, p.325-344, 1996.
- RIBEIRO, A.R.; KELLERMANN, A.; SANTOS, L.R., et al. *Salmonella* spp. in raw broiler parts: occurrence, antimicrobial resistance profile and phage typing of the *Salmonella* Enteritidis isolated. *Braz. J. Microbiol.*, v.38, p.296-299, 2007.
- RUIZ, J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decrease accumulation and DNA gyrase protection. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.51, p.1109-1117, 2003.
- SNOEYENBOS, G.H.; WILLIAMS, J.E. Salmonellosis. In: CALNEK, B.W. (Ed). *Diseases of Poultry*. 9.ed. Ames: Iowa State University, 1991. p.72-73.
- SOLARI, C.A.; REIS, E.M.F.; COSTA, R.G., et al. Caracterização dos sorovares de *Salmonella* isolados de aves de diferentes estados no quinquênio 1992-96. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19., 1997, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 1997. p.126. (Resumo).
- THRELFALL, E.J.; WARD, L.R.; SKINNER, J.A., et al. Antimicrobial drug resistance in nontyphoidal salmonellas from humans in England and Wales in 1999: decrease in multiple resistance in *Salmonella enterica* serotypes Typhimurium, Virchow, and Hadar. *Microb. Drug Resist.*, v.6, p.319-325, 2000.
- TURNIDGE, J. Antibiotic use in animals – prejudices, perceptions and realities. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.53, p.26-27, 2004.