

# Sensibilidade de *Enterobacteriaceae* da microbiota intestinal de frangos de corte submetidos à dieta com nitrofuranos

## Enterobacteriaceae sensitivity of the broiler intestinal microbiota submitted to nitrofurans diet

Carla Inês Soares Praxedes<sup>1</sup>, Paula Aparecida Martins Borges Bastos<sup>2</sup>, Nathália Oliveira Cavalcanti Zúniga<sup>3</sup>, Robson Maia Franco<sup>4</sup> e Sérgio Borges Mano<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca [CEFET], Câmpus Valença. Rua Voluntários da Pátria, 30, Bairro Belo Horizonte, Valença/RJ, Brasil, e-mail: cispraxedes@hotmail.com, author for correspondence.

<sup>2</sup> Instituto Federal Fluminense [IFF], Departamento de Microbiologia de Alimentos do câmpus Bom Jesus do Itabapoana.

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro [UFRJ], Instituto de Química, Centro de Ciências Matemáticas e da Natureza.

<sup>4</sup> Universidade Federal Fluminense [UFF], Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

Recebido/Received: 2012.01.27

Aceitação/Accepted: 2012.07.13

### RESUMO

O objetivo deste trabalho é detectar a sensibilidade de bactérias da família Enterobacteriaceae a diferentes antimicrobianos em frangos de corte submetidos à dieta com nitrofuranos. Para avaliar a sensibilidade foram isoladas e identificadas colônias da microbiota intestinal em frangos de corte. Os gêneros de maior frequência foram *Escherichia* e *Klebsiella*, seguidos de *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Hafnia*, *Proteus*, *Morganella*, além do gênero *Citrobacter*. Todos os isolados apresentaram resistência a dois ou mais antimicrobianos com diferentes perfis de resistência. Observou-se grande resistência aos nitrofuranos, especialmente a nitrofurantoína (100%), nitrofurazona (98,5%) e furaltadona (97,8%). Em relação às outras classes de antimicrobianos, a maior resistência foi a tetraciclina (92,5%) e a maior sensibilidade a amoxicilina/ácido clavulânico (48,1%). Não foi possível afirmar que a alta resistência aos nitrofuranos detectados nos isolados fecais foi devido ao uso destes antimicrobianos na ração. A resistência à tetraciclina e nitrofuranos reafirma a importância da não utilização destes fármacos em criações avícolas.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos, *Enterobacteriaceae*, nitrofuranos, sensibilidade

### ABSTRACT

In this study, we aimed to detect the sensitivity of the *Enterobacteriaceae* to different antimicrobials in broilers submitted to a nitrofurans diet. To evaluate this sensitivity, colonies of the broiler intestinal microbiota have been isolated and identified. The most frequent genera found have been *Escherichia* and *Klebsiella*, followed by *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Hafnia*, *Proteus*, *Morganella* and further *Citrobacter*. All isolates have presented resistance to two or more antimicrobials with different resistance level profiles. Resistance to nitrofurans, especially nitrofurantoin (100%), nitrofurazone (98.5%), and furaltadone (97.8%) has been observed. Concerning other antimicrobials classes, the higher resistance has been to tetracycline (92.5%) and the lower sensitivity, to amoxicillin/clavulanic acid (48.1%). It has not been possible to assert that the high resistance to the nitrofurans detected in the fecal isolates is due to the usage of these antimicrobials in the feed. The resistance to tetracycline and nitrofurans reaffirms the importance of not using of these drugs in poultry breeding

**Keywords:** Antimicrobials, *Enterobacteriaceae*, nitrofurans, sensitivity.

### Introdução

A resistência aos antimicrobianos de bactérias patogênicas, em seres humanos e animais é uma questão de grande preocupação. Embora o mau uso de antimicrobianos na medicina humana seja a principal

causa do problema, bactérias resistentes a antimicrobianos utilizados em animais são fatores que contribuem com alguns tipos de resistência em algumas espécies de bactérias (Barton, 2000).

Independentemente dos antimicrobianos serem usados com fins terapêutico, profilático ou intensi-

ficador do desempenho, seu uso na produção animal estimula a seleção de populações bacterianas resistentes, seja através da sobrevivência diferencial conferida por uma ou mais mutações espontâneas no cromossomo das bactérias, seja pela aquisição de material genético transferível que codifica um determinado mecanismo funcional de resistência (Jettar, 1999).

Bactérias que inevitavelmente desenvolvem resistência aos antimicrobianos em animais são compreendidas por patógenos, oportunistas e comensais. Os mesmos genes de resistência aos antimicrobianos e os mecanismos de transferência de genes podem ser encontrados na microbiota de animais e seres humanos (Teuber, 2001).

A maioria das bactérias da família Enterobacteriaceae encontradas na natureza habita o intestino dos seres humanos e dos animais (Madigan, Martinko e Parker, 2004; Tortora, Funke e Case, 2012), sendo a principal família de microrganismos responsáveis por surtos de infecções do aparelho gastrointestinal em humanos (Lourenço *et al.* 2007). Nos registros são encontrados dados de que mais de 74% dos incidentes de toxinfecções alimentares em que o veículo alimentar incriminado é estabelecido, em geral, por pratos à base de frango ou outra carne (Hobbs e Roberts, 1998). De acordo com os últimos dados da Secretaria de vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, no período de 2000 a 2011, aproximadamente 50% dos alimentos envolvidos em surtos alimentares são carnes bovina, suína, aves e principalmente ovos e derivados (MS, 2011).

Segundo Palermo-Neto *et al.* (2006), a maior preocupação com o uso indevido de antimicrobianos na produção animal está na ingestão humana de alimentos contaminados com bactérias resistentes, podendo ser a terapia antimicrobiana ineficaz. Além disso, os resíduos desses antimicrobianos podem apresentar efeitos tóxicos diretos para o consumidor e causar transtornos na microbiota do meio ambiente.

O surgimento e a propagação da resistência em Enterobacteriaceae estão dificultando o tratamento de graves infecções hospitalares e propiciando a seleção de espécies resistentes a todos os agentes atualmente disponíveis (Peterson, 2006).

Através do baixo custo e efeito eficaz contra uma série de bactérias patogênicas, os nitrofuranos foram muito administrados nas gastroenterites causadas pelas enterobactérias *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. São também utilizados como terapêutico, profilático e como aditivo zootécnico antibacteriano e antiprotozoário em aves, suínos, na aquicultura (peixes e camarões) e em colônias de abelhas (Gottschall e Wang, 1995; McCracken *et al.*; 1995; Finzi *et al.*, 2005; Mottier

*et al.*, 2005; Barbosa *et al.*, 2007; Vass, Hruska e Franek, 2008; Price, 2009).

Os nitrofuranos têm como principais membros a furazolidona (FZD), furaltadona (FTD), nitrofurantoína (NFT) e nitrofurazona (NFZ), sendo antimicrobianos sintéticos (quimioterápicos) de largo espectro, apresentando o grupo nitro-5 característico, essencial para a atividade antimicrobiana (Jones *et al.*, 1983; Kennedy, 2003; Finzi *et al.*, 2005; Vass, Hruska e Franek, 2008).

Com base em estudos, Delatour *et al.* (2003) demonstraram alterações cromossômicas e neoplásicas relacionadas ao uso destes compostos. A União Europeia banuiu o uso dos nitrofuranos na criação de animais de produção, e estes fármacos passaram a fazer parte do Anexo IV do Regulamento 2377/90/EC, onde são incluídas substâncias que não possuem um Limite Máximo de Resíduo (LMR), pois resíduos destas substâncias presentes em alimentos de origem animal, a qualquer nível, representam perigo para a saúde do consumidor (União Europeia, 1990).

No Brasil, com base na Portaria nº 448 de 10 de Setembro de 1998 (Brasil, 1998), a Instrução Normativa Nº 38 de 10 de maio de 2002 (Brasil, 2002) e a Instrução Normativa nº 9 de 27 de Junho de 2003 (Brasil, 2003a) do Ministério da Agricultura, está proibida a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos princípios ativos cloranfenicol e nitrofuranos e os produtos que os contenham estes princípios ativos, para uso veterinário e suscetível de emprego na alimentação de todos os animais e insetos.

Apesar da proibição, esses produtos continuam sendo comercializados. Pontes Netto *et al.* (2005) ao realizarem o levantamento em 160 estabelecimentos comerciais no estado do Paraná, Brasil, detectaram entre os principais fármacos frequentemente administrados em terapêuticas para patologias do rebanho leiteiro, a presença de furazolidona e nitrofurazona.

Segundo o Sistema de Alerta Rápido para os Gêneros Alimentícios e Alimentos para Animais, do inglês "Rapid Alert System for Food and Feed" (RASFF, 2010), houve pouca detecção de metabólitos de nitrofuranos nas análises de resíduos de fármacos veterinários em alimentos de origem animal. No ano anterior (RASFF, 2009), em Bangladesh, Índia e Sri Lanka, houve grande número de casos de contaminação, especialmente em crustáceos. No entanto, notificações em pescados, mel, carne de frango e outras carnes também foram relatadas em poucos casos.

No sentido de relacionar os efeitos dos nitrofuranos na resistência bacteriana em avicultura, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade

de bactérias da família Enterobacteriaceae a diferentes antimicrobianos em frangos de corte submetidos à dieta com nitrofuranos.

## Material e Métodos

O trabalho presente foi realizado no câmpus Bom Jesus do Itabapoana do Instituto Federal Fluminense, através de um acordo tripartite interinstitucional feito em 2008, denominado “Acordo de Cooperação Acadêmica e Intercâmbio Técnico, Científico e Cultural” entre o Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), a Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF) e o Instituto Federal Fluminense (IFF) câmpus Bom Jesus do Itabapoana/RJ, naquele ano denominado Colégio Agrícola Ildefonso Bastos Borges vinculado à Universidade Federal Fluminense (UFF).

O ensaio de campo foi realizado em galpão experimental no câmpus Bom Jesus do Itabapoana, sendo adquiridos 275 pintos de um dia (machos e fêmeas) da linhagem Cobb, provenientes do incubatório da empresa Globoaves na cidade de Formiga, Minas Gerais. Os animais foram separados em cinco grupos de 55 e criados em condições experimentais, realizadas da forma mais próxima possível de uma criação comercial, mimetizando o manejo de um avicultor. No manejo de criação as aves receberam durante os primeiros catorze dias de vida ração de fase inicial (milho, soja e núcleo de fase inicial) e água potável à vontade provida em bebedouros pendulares durante todo o trabalho. No décimo quinto iniciou-se o tratamento com as rações medicadas por nove dias consecutivos. Para a ração utilizada no tratamento um (T01), contendo 185 mg/kg de furazolidona (FZD), foram homogeneizados 3,7 g de furazolidona da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) em 1,0 kg de ração de milho e soja adicionada de núcleo em saco plástico fechado. Após a homogeneização, foram adicionados mais 19 kg de ração, completando 20 kg de alimento tratado, sendo realizada a homogeneização do total. Para a ração utilizada no tratamento dois (T02), contendo 202 mg/kg de furaltadona (FTD), foram homogeneizados 4,04 g de furaltadona da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) conforme descrito para a furazolidona. Para a ração utilizada no tratamento três (T03), contendo 300 mg/kg de nitrofurantoína, foram homogeneizados 6,0 g de nitrofurantoína (NFT) da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) da mesma forma como descrito para a furazolidona. Para a ração utilizada no tratamento quatro (T04), contendo 300 mg/kg de nitrofurazona, foram homogeneizados 6,0 g de nitrofurazona (NFZ) da Sigma-Aldrich (St. Lou-

is, MO, USA) em conformidade com o descrito para a furazolidona. O tratamento cinco (T05) continuou recebendo a ração de fase inicial e representou o grupo controle (Zuidema *et al.*, 2004; McCracken, Van Rhijn e Kennedy, 2005).

Após os nove dias de tratamento, restituiu-se a criação normal, retornando a alimentação com ração comercial de fase de crescimento, que foi administrada até os 42 dias de vida, quando houve a substituição por ração de fase de finalização, administrada até os 51 dias de vida.

Procedeu-se a seis abates de grupos de animais de todos os tratamentos entre o 23° dia de vida ao 51° dia, com objetivo de coletar amostras para futuro estudo de metabolização e distribuição de resíduos de nitrofuranos por pesquisadores da UFRJ (Zúniga, 2010). No 51° dia de vida, momentos antes do abate, foi realizada a coleta de amostra através de suabe cloacal do último grupo de aves (52 aves) para identificação bacteriana e posterior avaliação da sensibilidade antimicrobiana.

As 52 amostras fecais (suabes) foram distribuídas da seguinte forma: nove suabes do T01, 11 suabes do T02, 11 suabes do T03, 12 suabes do T04 e nove suabes do T05. Posteriormente, os suabes foram acondicionados em tubos de ensaio esterilizados contendo o meio “Cary-Blair” (meio de transporte) da marca “Sterile” e enviados para o Laboratório de Microbiologia do câmpus Bom Jesus do Itabapoana do Instituto Federal Fluminense. Cada ave (frango) foi representada por um suabe (amostra fecal).

As amostras foram analisadas para detecção de Enterobacteriaceae em conformidade com a metodologia descrita pela Instrução Normativa SDA N° 62 de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2003b) para as fases de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, isolamento e identificação bioquímica de triagem.

Após a fase de isolamento, foram coletadas todas as colônias para realização das provas bioquímicas de triagem e posterior confirmação bioquímica.

Todas as 142 colônias foram submetidas a análises bioquímicas específicas através do sistema Bactray I e II para identificação de bastonetes Gram-negativos. Culturas confirmadas bioquimicamente foram submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana.

A sensibilidade antimicrobiana foi determinada pelo método Kirby Bauer pelo teste de difusão em discos, segundo o Comitê Nacional de Padrões Clínicos Laboratoriais (CLSI, 2011).

Os antimicrobianos testados foram: amicacina, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina, aztreonam, cefalotina, cefepime, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, gentamicina,

piperacilina/tazobactam, sulfazotrim, tetraciclina, furazolidona, furaltadona, nitrofurantoína e nitrofurazona. Os 15 primeiros corresponderam ao sistema Polisensidisc 15 (DME®) para Gram-negativo e para o grupo dos nitrofuranos foi preparado antimicrobianos no Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos do Departamento de Tecnologia dos Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, em concentrações terapêuticas segundo Zuidema *et al.* (2004) e McCracken, Van Rijn e Kennedy (2005).

Um isolado foi definido como resistente caso o mesmo fosse resistente a um ou mais agentes testados, sendo a resistência múltipla definida como resistência para dois ou mais agentes (Carramiñana *et al.* 2004).

## Resultados e Discussão

Foram obtidos 142 isolados de bactérias Gram-negativas a partir dos suabes fecais coletados. Todos os isolados foram agrupados por gênero, com exceção das *Escherichia* que foram separadas por espécie devido à importância e frequência da *E. coli*.

A maior frequência observada foi de *Escherichia coli* (55,6%), seguidos de *Klebsiella* spp. (24,6%). Outros gêneros isolados foram: *Enterobacter* (5,6%), *Pseudomonas* (4,9%), *Hafnia* (2,1%), *Proteus* (2,1%), *Morganella* (1,4%), *Citrobacter* (0,7%) e as espécies *E. fergusonii* (2,1%) e *E. hermannii* (0,7%).

Peterson (2006) e Menezes *et al.* (2008) mencionaram que, em relação aos isolados de maior frequência, sabe-se que *E. coli* é uma bactéria potencialmente patogênica, enquanto a importância da *Klebsiella* spp. como agente patogênico vem crescendo nos últimos anos. Além disso, esta bactéria vem-se equiparando a *E. coli* no que se refere a saúde coletiva. Esses aspectos são corroborados quando se observa os resultados na presente pesquisa.

Todos os isolados apresentaram resistência a dois ou mais antimicrobianos, sendo multirresistentes, com diferentes perfis de resistência.

Dos 15 antimicrobianos testados, disponíveis comercialmente, a tetraciclina foi a que teve maior número de microrganismos resistentes (92,5%) em relação a todos os tratamentos, seguida pelo aztreonam (80%). Contudo, a amoxicilina/ác. clavulânico foi o antimicrobiano em que a microbiota isolada apresentou maior sensibilidade (48,1%).

Os isolados de *E. coli*, em todos os grupos tratados e controle, apresentaram maior resistência à tetraciclina (92,5%), seguida de uma quinolona, a ciprofloxacina (82,3%). A resistência a esses antimicrobianos

também foi detectada por Sáenz *et al.* (2001) na Espanha, em 40 isolados de *E. coli* presentes em amostras fecais de frangos de corte, maior resistência a quinolona (ácido nalidíxico) e tetraciclina, em percentual de 88% e 75% respectivamente.

Segundo Looveren *et al.* (2001), os principais agentes utilizados na profilaxia e tratamento de doenças entéricas na última década foram as fluoroquinolonas. Também a tetraciclina foi muito utilizada, sendo considerado o antimicrobiano mais antigo, usado no tratamento e como promotor de crescimento em rações de animais. Apesar de terem sido banidas no Brasil desde 1998, segundo Rossi (2005), as fluoroquinolonas continuam sendo usadas no país. Esta circunstância pode ser a justificativa, em parte, dos resultados de alta resistência encontrados para estes antimicrobianos.

O maior perfil de sensibilidade para *E. coli* foi detectado para amoxicilina/ácido clavulânico (48,1%), piperacilina/tazobactam (44,3%) e cloranfenicol (43%). *Klebsiella* spp. também foi encontrada em todos os grupos tratados e no controle, havendo sensibilidade a maior número de antimicrobianos nos grupos tratados com furaltadona e nitrofurazona. No grupo tratado com furaltadona essa bactéria foi sensível a todos os 15 antimicrobianos comercialmente disponíveis, enquanto no grupo tratado com nitrofurazona apresentou resistência apenas a tetraciclina.

*E. fergusonii* foi isolada apenas dos grupos de animais tratados com furazolidona e nitrofurazona. Observou-se a tendência para maior resistência nos isolados do segundo grupo, pois enquanto no primeiro detectou-se resistência apenas à tetraciclina, no grupo tratado com nitrofurazona houve sensibilidade apenas a dois antimicrobianos: o beta-lactâmico cefepime, e o aminoglicosídeo amicacina.

As estirpes de *Enterobacter* spp. não foram isoladas somente do grupo de controle, tendo sido detectadas em todos os outros. As estirpes isoladas do grupo tratado com furaltadona foram resistentes a todos os antimicrobianos testados, enquanto as do grupo tratado com nitrofurazona apresentaram sensibilidade apenas aos beta-lactâmicos ceftadizima e ceftriaxona. Observou-se que os grupos tratados com furaltadona e nitrofurazona apresentaram resistência a maior número de antimicrobianos que nos outros grupos.

*Morganella* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp. e a espécie *E. hermannii* foram detectadas apenas no grupo tratado com nitrofurantoína. Apresentaram sensibilidade a um grande número de antimicrobianos. *Morganella* spp. foi resistente apenas a tetraciclina e sulfazotrim; *Proteus* spp. apresentou resistência a tetraciclina e ao beta-lactâmico aztreonam; *E. hermannii* foi resistente a ampicilina, tetraciclina, ciprofloxacina

e sulfazotrim, enquanto *Citrobacter* spp. foi resistente apenas ao cloranfenicol.

No teste de sensibilidade utilizando discos com nitrofuranos testados foram detectados os seguintes resultados: observou-se uma grande resistência aos nitrofuranos dentre os gêneros e espécies isolados, especialmente a nitrofurantoína (100%), nitrofurazona (98,5%) e furaltadona (97,8%).

Todos os microrganismos isolados dentre os tratamentos com nitrofuranos e controle foram resistentes à nitrofurantoína. Também houve ampla resistência a nitrofurazona, tendo sido detectada sensibilidade a este nitrofurano apenas em um isolado de *E. coli* do grupo controle e um isolado do grupo tratado com furazolidona.

No que diz respeito à furaltadona, observou-se sensibilidade apenas em isolados de *E. coli*, *Enterobacter* spp. e *Pseudomonas* spp.

Dos isolados tratados com furazolidona ocorreu o maior número de isolados sensíveis (22,5%) dentre os nitrofuranos, caracterizando-se como o antimicrobiano de maior eficácia, tendo sido detectada essa sensibilidade em isolados de *E. coli*, *E. fergusonii*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. e *Proteus* spp.

Não foi detectada diferença entre o grupo controle e todos os grupos de animais tratados com os nitrofuranos em relação ao perfil de resistência da *Klebsiella* spp., cujos isolados foram 100% resistentes aos nitrofuranos com exceção da furazolidona, em que foram detectados isolados sensíveis em todos os tratamentos (22,9%). Pode-se inferir a partir desse resultado que *Klebsiella* spp. não foi afetada pelo fármaco utilizado na ração no que se refere ao seu perfil de sensibilidade frente aos nitrofuranos.

O gênero *Hafnia*, detectado nos grupos tratados com furazolidona, furaltadona e nitrofurazona, foi resistente a todos nitrofuranos.

Dos gêneros e espécie detectados exclusivamente no grupo de animais tratados com nitrofurantoína (*Citrobacter*, *E. hermannii*, *Morganella* e *Proteus*), todos foram resistentes aos nitrofuranos, com exceção de *Proteus* spp. que foi sensível à furazolidona.

A resistência a nitrofuranos também foi detectada em outras bactérias Gram-negativas por Pereira (2003), em que espécies de *Aeromonas* e *Vibrio* identificadas em mexilhões apresentaram perfil de resistência a nitrofurantoína, tendo sido detectadas também estirpes multirresistentes à nitrofurantoína-pefloxacina. Isto demonstra a grande dispersão de estirpes bacterianas multirresistentes a nitrofuranos em diferentes espécies animais.

Moreira e Moraes (2002), pesquisando bactérias Gram-negativas em carcaças de frango detectaram que os isolados de *Salmonella* resistentes a cinco ou

mais antimicrobianos possuíram maior sensibilidade a furazolidona (62,5%) que a nitrofurantoína (28,1%), enquanto os isolados de *E. coli* encontrados nesta pesquisa foram 90% sensíveis à furazolidona e 30% a nitrofurantoína.

Estes achados corroboram resultados encontrados no presente trabalho, em que as enterobactérias *E. coli* e *Klebsiella* spp. apresentaram maior sensibilidade à furazolidona (24,1% e 22,9%, respectivamente) quando comparados aos outros nitrofuranos. *Klebsiella* spp. apresentou 100% de resistência à furaltadona, nitrofurantoína e nitrofurazona, enquanto *E. coli* foi resistente em 98,7%, 100% e 97,4%, respectivamente. Não houve diferença aparente entre os quatro tratamentos e o grupo controle no que diz respeito à resistência, tanto aos nitrofuranos pesquisados, quanto aos demais antimicrobianos testados. Moreira e Moraes (2002) detectaram uma grande porcentagem de isolados resistentes à furazolidona e nitrofurantoína, entre outras classes de antimicrobianos com uso frequente no Brasil, como promotores de crescimento em aves. O trabalho destes autores foi realizado no período que os nitrofuranos eram legalmente comercializados no Brasil. Observa-se, no presente trabalho, que as altas resistências aos nitrofuranos encontradas uma década após aqueles terem sido ilegalizados podem indicar a permanência dos efeitos desse uso no passado, e/ou, a não observação por parte dos produtores da legislação vigente.

## Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

- Não foi possível afirmar que, a grande resistência aos nitrofuranos detectada nos isolados fecais de frangos, foi devida ao uso destes antimicrobianos na ração, já que não houve diferença aparente entre os quatro tratamentos e o grupo controle no que diz respeito à resistência, tanto aos nitrofuranos pesquisados, quanto aos demais antimicrobianos testados.
- A alta resistência a antimicrobianos banidos pela legislação para uso na alimentação animal, como os nitrofuranos e a tetraciclina, é uma preocupação que deve ser levada em consideração. Com base nestes achados, pode-se reafirmar a importância da não utilização destes fármacos em criações avícolas, pois além dos efeitos já conhecidos, sua utilização em animais pode ser ineficaz pela grande resistência da microbiota das aves.
- O perfil de multirresistência detectado em todos os isolados bacterianos é preocupante do ponto de vista da saúde coletiva, tendo em vista serem muitas

destas bactérias potencialmente patogênicas, como é o caso da *E. coli* e *Klebsiella* spp., podendo haver dificuldades no tratamento em casos de infecções e/ou toxinfecções alimentares.

## Referências Bibliográficas

- Barbosa, J.; Moura, S.; Barbosa, R.; Ramos, F. e Silveira, M. (2007) - Determination of nitrofurans in animal feeds by liquid chromatography-UV photodiode array detection and liquid chromatography – ionspray tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 586: 359-365.
- Barton, M.D. (2000) - Antibiotic use in animal feed and its impact in human health. *Nutrition Research Reviews*, 13: 279-299.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (1998) - Portaria nº 448 de 10 de Setembro de 1998. Proíbe a fabricação, a importação, a comercialização e o emprego de preparações farmacêuticas de uso veterinário, de rações e de aditivos alimentares contendo cloranfenicol, furazolidona e nitrofurazona, em animais cujos produtos sejam destinados à alimentação humana. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, Seção 1*. (11 setembro 1998), p. 38.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2002) - Instrução Normativa nº 38 de 08 de Maio de 2002. Proíbe a fabricação, a importação e a comercialização de cloranfenicol, de nitrofuranos e de produtos que contenham estes princípios ativos, para uso em preparação de insumos utilizados na pecuária nacional. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, Seção 1*. (09 maio 2002), p. 9.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2003a) - Instrução Normativa nº 9 de 27 de Junho de 2003. Proíbe a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos principais ativos cloranfenicol e nitrofuranos e os produtos que contenham estes princípios ativos, para uso veterinário e suscetível de emprego na alimentação de todos os animais e insetos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, Seção 1*. (30 junho 2003), p. 4.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2003b) - Instrução Normativa SDA nº 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, Seção 1*. (18 setembro de 2003), p. 265.
- Carramiñana, J.J.; Rota, C.; Agustín, I. e Herrera, A. (2004) - High prevalence of multiple resistance to antibiotics in Salmonella serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. *Veterinary Microbiology*, 104: 133-139.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute (2011) - *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-First Informational Supplement*. CLSI document M100-S21. Wayne, PA. CLSI.
- Delatour, T.; Gremaud, E.; Mottier, P.; Richoz, J.; Vera, F.A. e Stadler, R. H. (2003) - Preparation of stable isotope-labeled 2-nitrobenzaldehyde derivatives of four metabolites of nitrofurantoin antibiotics and their comprehensive characterization by UV, MS, and NMR techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6371-6379.
- Finzi, J.K.; Donato, J.L.; Sucupira, M. e De Nucci, G. (2005) - Determination of nitrofurantoin metabolites in poultry muscle and eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 824: 30-35.
- Gottschall, D.W. e Wang, R. (1995) - Depletion and bioavailability of [<sup>14</sup>C] furazolidone residues in swine tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2520-2525.
- Hobbs, B.C. e Roberts, D. (1998) - *Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos*. São Paulo, Livraria Varela, 347 p.
- Jetacar. (1999) - The use of antibiotics in food-producing animals: antibiotic-resistant bacteria in animals and humans. *Report of the Joint Expert Advisory Committee on Antibiotic Resistance* (em linha). (Acesso em 10 agosto 2011). Disponível em < <http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/content/health-pubs-jetacar-cnt.htm> >.
- Jones, L.M.; Booth, N.H. e McDonald, L.E. (1983) - *Farmacologia e Terapêutica em Veterinária*. 4º ed. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan S.A., 1000 p.
- Kennedy, G. (2003) - Nitrofurantoin em Avicultura. In: *Anais do IV Simpósio Brasil Sul de Avicultura* (em linha). Concórdia, SC, Brasil, Embrapa Suínos e Aves (Acesso em 26 julho 2011). Disponível em < [www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc.../anais0304\\_bsa\\_kennedy.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc.../anais0304_bsa_kennedy.pdf) >.
- Looveren, M.V.; Daube, G.; Zutter, L.; Dumont, J.M.; Lammens, C.; Wijdooghe, M.; Vandamme, P.; Jouret, M.; Cornelis, M. e Goossens, H. (2001) - Antimicrobial susceptibilities of Campylobacter strains isolated from food animals in Belgium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48: 235-240.
- Lourenço, N.G.G.S.; Takahashi, C.K.; Lopes, T.F. e Lopes, C.A.M. (2007) - Environmental parameters and antimicrobial susceptibility of enterobacteriaceae isolated from estuarine waters of São Vicente, São Paulo, Brasil. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 13 (2): 472-478.

- Madigan, M.T.; Martinko, J.M. e Parker, J. (2004) - *Microbiologia de Brock*. 10<sup>o</sup> ed. São Paulo, Prentice Hall, 608 p.
- McCracken, R.J.; Blanchflower, W.J.; Rowan, C.; McCoy, M.A. e Kennedy, D.G. (1995) - Determination of furazolidone in porcine tissue using thermospray liquid chromatography-mass spectrometry and a study of the pharmacokinetics and stability of its residues. *Analyst*, 120: 2347-2351.
- McCracken, R.J. e Van Rhijn, J.A. e Kennedy, D.G. (2005) - The occurrence of nitrofurans metabolites in the tissues of chickens exposed to very low dietary concentrations of the nitrofurans. *Food Additives and Contaminants*, 22, 6: 567-572.
- Menezes, E.A.; Alencar, A.M.; Cunha, F.A.; Ângelo, M.R.F.; Salviano, M.N.C. e Oliveira, I.R.N. (2008) - Frequência de cepas produtoras de enzima beta lactamase de espectro expandido (ESBL) e perfil de susceptibilidade de *Klebsiella pneumoniae* em hemo-culturas no berçário de um hospital em Fortaleza. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 40 (1): 7-11.
- Moreira, M.A.S. e Moraes, C.A. (2002) - Resistência a antibióticos em bactérias Gram-negativas isoladas de carcaças de frango. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 54 (1): 1-7.
- Mottier, P.; Khong, SP.; Gremaud, E.; Richoz, J.; Delattour, T.; Goldmann, T. e Guy, P.A. (2005) - Quantitative determination of four nitrofurans metabolites in meat by isotope dilution liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1067: 85-91.
- MS. Ministério da Saúde (2011) - *Dados Epidemiológicos – DTA período de 2000 a 2011* (em linha). Brasília, Secretaria de Vigilância em Saúde. (Acesso em 4 de março de 2012). Disponível em <www.portal.saude.gov.br/portal/.../dados\_epidemiologicos\_dta\_15911.pdf>.
- Palermo-Neto, J. (2006) - Uso de medicamentos veterinários: Impactos na moderna avicultura. In: *Anais do Simpósio Brasil Sul de Avicultura* (em linha). Chapecó, SC, Brasil, p. 70-78.
- Pereira, C.S. (2003) - *A cultura de mexilhões na Baía de Guanabara e suas implicações para a saúde pública – Contexto político-social e microbiológico*. Tese de Doutorado. Rio de Janeiro, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, 176 p.
- Peterson, D.L. (2006) - Resistance in gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. *American Journal of Medicine*, 34 (5): 20-28.
- Pontes Netto, D.; Lopes, M.O.; Oliveira, M.C.S.; Nunes, M.P.; Machinski Junior, M.; Bosquiroli, S.L.; Benatto, A.; Benini, A.; Bombardelli, A.L.C.; Vedovelho Filho, D.; Machado, E.; Belmonte, I.L.; Aberton, M.; Pedroso, P.P. e Scucato, E.S. (2005) - Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro de Estado do Paraná. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 1: 145-151.
- Price, P. (2009) - General residues background. In: *Residues meat Instruction. Information* (em linha). (Acesso em 14 julho 2010). Disponível em <http://www.dardni.gov.uk/vphu-moc-chapter-05-residues.pdf>.
- [RASFF] *The Rapid Alert System for Food and Feed* (2009) - *Annual Report 2009* (em linha). (Acesso em 21 de junho de 2011). Disponível em <ec.europa.eu/food/food/.../report2009\_en.pdf>.
- [RASFF] *The Rapid Alert System for Food and Feed*. (2010) - *Annual Report 2010* (em linha). (Acesso em 06 de dezembro de 2011). Disponível em <http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/index\_en.htm>.
- Rossi, A.A. (2005) - *Biossegurança em frangos de corte e saúde pública: limitações, alternativas e subsídios na prevenção de salmoneloses*. Dissertação de Mestrado. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, 111 f.
- Sáenz, Y.; Zarazaga, M.; Briñas, L.; Lantero, M.; Ruiz-Larrea, F. e Torres, C. (2001) - Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 18: 353-358.
- Teuber, M. (2001) - Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 4: 493-499.
- Tortora, G.J.; Funke, B.R. e Case, C.L. (2012) - *Microbiologia*. 10<sup>a</sup> ed. Porto Alegre, Artmed, 934 p.
- União Europeia (1990) - Council Regulation 2377/90/EC of 26 June 1990, laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. *Official Journal of the European Union* L224, 18/08/1990.
- Vass, M.; Hruska, K. e Franek, M. (2008) - Nitrofurans antibiotics: a review on the application, prohibition and residual analysis. *Veterinarni Medicina*, 53, 9: 469-500.
- Zuidema, T.; Van Rhijn, J.A.; Schat, B.; Mulder, P.P.J.; Bolck, Y.J.C.; Hoogenboom, L.A.P. e Kennedy, D.G. (2004) - Metabolism and depletion of furazolidone and furaltadone in broilers. In: Ginkel, L.A. (van) e Bergwerff, A.A. - *Proceedings of the Euroresidue V Conference*. Noordwijkerhout, The Netherlands, Bilthoven, National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), p. 996-1001.
- Zúñiga, N.O.C. (2010) - *Desenvolvimento de criação experimental de frango de corte para viabilização de estudo de metabolização de nitrofuranos*. Dissertação de Mestrado. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 211 p.