

Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

# Pesquisa Científica e Tecnológica em Microbiologia 3



Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

# Pesquisa Científica e Tecnológica em Microbiologia 3



2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação:** Luiza Batista

**Edição de Arte:** Luiza Batista

**Revisão:** Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernando da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande



Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília  
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto



Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
Prof<sup>a</sup> Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar  
Prof<sup>a</sup> Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas  
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof<sup>a</sup> Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
Prof<sup>a</sup> Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
Prof<sup>a</sup> Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé  
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina  
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay  
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA  
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis  
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR  
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
 Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior  
 Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo  
 Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
 Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
 Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
 Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
 Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
 Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
P474	<p>Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia 3 [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF            Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader            Modo de acesso: World Wide Web            Inclui bibliografia            ISBN 978-65-5706-143-5            DOI 10.22533/at.ed.435200107</p> <p>1. Microbiologia – Pesquisa – Brasil. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da.</p> <p style="text-align: right;">CDD 579</p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
 Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
 contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

Temos o prazer de dar continuidade ao tema de microbiologia inter-relacionado à pesquisa científica e tecnológica iniciado pela editora no ano de 2019. Apresentamos aqui um novo volume deste contexto, denominado “Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia, volume 3” contendo trabalhos e pesquisas desenvolvidas em diversos institutos do território nacional contendo análises de processos biológicos embasados em células microbianas ou estudos científicos na fundamentação de atividades microbianas com capacidade de interferir nos processos de saúde/doença.

A microbiologia é um vasto campo que inclui o estudo dos seres vivos microscópicos nos seus mais variados aspectos como morfologia, estrutura, fisiologia, reprodução, genética, taxonomia, interação com outros organismos e com o ambiente além de aplicações biotecnológicas. Como uma ciência básica a microbiologia utiliza células microbianas para analisar os processos fundamentais da vida, e como ciência aplicada ela é praticamente a linha de frente de avanços importantes na medicina, agricultura e na indústria.

A microbiologia como ciência iniciou a cerca de 200 anos, entretanto os avanços na área molecular como a descoberta do DNA elevou a um novo nível os estudos desses seres microscópicos, além de abrir novas frentes de pesquisa e estudo. Sabemos na atualidade que os microrganismos são encontrados em praticamente todos os lugares, e a falta de conhecimento que havia antes da invenção do microscópio hoje não é mais um problema no estudo, principalmente das enfermidades relacionadas aos agentes como bactérias, vírus, fungos e protozoários.

Temas ligados à pesquisa e tecnologia microbiana são, deste modo, discutidos aqui com a proposta de fundamentar o conhecimento de acadêmicos, mestres e todos aqueles que de alguma forma se interessam pela saúde em seus aspectos microbiológicos. Portanto a obra propõe uma teoria bem fundamentada nos resultados práticos obtidos em alguns campos da microbiologia, abrindo perspectivas futuras para os demais pesquisadores de outras subáreas da microbiologia.

Assim, desejo a todos uma ótima leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto



## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
ANÁLISE FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS DA CASCA DOS FRUTOS DE <i>Hymenaea courbaril</i> L SOBRE <i>Staphylococcus aureus</i>	
Diogo Siebra Alencar Gleilton Weyne Passos Sales Suelen Carneiro de Medeiros Mary Anne Medeiros Bandeira Nádia Accioly Pinto Nogueira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4352001071</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>12</b>
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS DE FOLHAS E CASCA DE <i>Jacaratia spinosa</i> (Aubli) A. DC. (MAMOEIRO-BRAVO)	
Katiele Pelegrini João Augusto Firmino de Carvalho Jakson José Ferreira Graciele Fernanda de Souza Pinto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4352001072</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>18</b>
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DA MACRÓFITA <i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam (APIACEAE)	
Andreza Larissa do Nascimento Joyce Bezerra Guedes Antônia Ângela Bezerra José Fabricio de Carvalho Leal Maria do Socorro Meireles de Deus Ana Paula Peron Márcia Maria Mendes Marques Duque Ana Carolina Landim Pacheco	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4352001073</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>35</b>
O ESTADO DA ARTE DO COMPLEXO <i>Cryptococcus neoformans</i> E DA CRIPTOCOCOSE	
Lucas Daniel Quinteiro de Oliveira Lúcia Kioko Hasimoto e Souza Benedito Rodrigues da Silva Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4352001074</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>57</b>
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> PROTEIN EXTRACT INDUCES IP10 PRODUCTION IN BLOOD SAMPLES OF INDIVIDUALS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS	
Rogério Reis Conceição Samanta Queiroz dos Santos Zunara Victória Santana Batista Ramon Mendes dos Santos Silvânia Maria Andrade Cerqueira Caio Lopes Borges Andrade Soraya Castro Trindade Fúlvia Soares Campos de Sousa Lília Ferreira de Moura-Costa Marcos Borges Ribeiro	

Roberto Meyer  
Songelí Menezes Freire  
DOI 10.22533/at.ed.4352001075

**CAPÍTULO 6 ..... 66**

EFFECTS OF SUB-INHIBITORY CONCENTRATION OF ANTIMICROBIALS IN *Bacteroides fragilis* STRAINS ISOLATED FROM INTRA-ABDOMINAL INFECTIONS

Marcela Abreu Menezes  
Priscila Simão Costa  
João Paulo Amaral Haddad  
Cristina Dutra Vieira  
Luiz de Macêdo Farias  
Simone Gonçalves dos Santos

DOI 10.22533/at.ed.4352001076

**CAPÍTULO 7 ..... 83**

EFICÁCIA DE ÁLCOOL GEL COMO ANTIMICROBIANO DE SUPERFÍCIES INERTES

Cristiane Coimbra de Paula  
Fabrício Caram Vieira  
João Pedro Castoldo Passos  
Caroline Aquino Vieira de Lamare  
Walkiria Shimoya-Bittencourt

DOI 10.22533/at.ed.4352001077

**CAPÍTULO 8 ..... 91**

EVALUACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN BACTERIAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE NOVILLOS ALIMENTADOS CON EXTRACTO DE ORÉGANO

Maria Juliana Moncada Diaz  
Luciano Antônio Ritt  
Michele Bertoni Mann  
Ana Paula Guedes Frazzon  
Jeverson Frazzon  
Vivian Fischer

DOI 10.22533/at.ed.4352001078

**CAPÍTULO 9 ..... 100**

OBTENÇÃO DE CELULASES MICROBIANAS: UMA BREVE REVISÃO

Tatielle Pereira Silva  
Alexsandra Nascimento Ferreira  
Cledson Barros de Souza  
Dávida Maria Ribeiro Cardoso dos Santos  
Marta Maria Oliveira dos Santos  
Hugo Juarez Vieira Pereira

DOI 10.22533/at.ed.4352001079

**SOBRE O ORGANIZADOR..... 111**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 112**

## EVALUACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN BACTERIAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE NOVILLOS ALIMENTADOS CON EXTRACTO DE ORÉGANO

Data de aceite: 01/06/2020

Data de submissão: 10/03/2020

**Vivian Fischer**

Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre – Rio Grande do Sul

<https://orcid.org/0000-0002-7670-7454>

**Maria Juliana Moncada Diaz**

Universidad Industrial de Santander

Bucaramanga – Santander

<https://orcid.org/0000-0001-7443-4993>

**Luciano Antônio Ritt**

Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre – Rio Grande do Sul

<https://orcid.org/0000-0003-2062-4622>

**Michele Bertoni Mann**

Instituto de Ciências Básicas da saúde (ICBS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre – Rio Grande do Sul

<https://orcid.org/0000-0003-3335-8837>

**Ana Paula Guedes Frazzon**

Instituto de Ciências Básicas da saúde (ICBS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre – Rio Grande do Sul

<https://orcid.org/0000-0002-1029-5776>

**Jeverson Frazzon**

Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre – Rio Grande do Sul

<https://orcid.org/0000-0002-0209-1466>

**RESUMEN:** Bacterias que portan genes de resistencia a antimicrobianos convencionales pueden encontrarse en sistemas de producción animal. Estos microorganismos podrían ser transmitidos a humanos por efluentes ambientales generando un riesgo para la salud pública. En este trabajo se evaluó la presencia de genes de resistencia en la microbiota de cuatro porciones del tracto gastrointestinal de un grupo de novillos cuya alimentación fue suplementada con extracto de orégano como alternativa al uso de aditivos antimicrobianos. Los genes de resistencia fueron detectados utilizando la técnica de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Cuatro de los seis genes evaluados, *Tet(W)*, *Tet(M)*, *BlaTem* y *Erm(B)*, fueron encontrados en las porciones gastrointestinales de ambos grupos en estudio. El gen *Tet(M)* no fue detectado en el rumen. Fue posible comprobar que bacterias portadoras de genes de resistencia pueden establecerse en el microbioma de novillos lecheros independiente



de su dieta, puesto que no fueron suministrados aditivos antimicrobianos. Este estudio sugiere que existen otras vías de diseminación de resistencia y estas deben ser controladas y monitoreadas al igual que los alimentos de origen animal, ya que también pueden representar un alto riesgo para la salud humana.

**PALABRAS CLAVE:** Antibióticos, Bovinos, Resistencia, Tracto Gastrointestinal, Microbiota.

## EVALUATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES IN BACTERIA PRESENT IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF CALVES FEEDED WITH ORGAN EXTRACT

**ABSTRACT:** Bacteria with antimicrobial resistance genes can be found in animal production systems. These microorganisms could be transmitted to humans by environmental effluents, creating a risk to public health. The resistance genes were evaluated in four portions of gastrointestinal tract microbiota of calves whose feeding was supplemented with oregano extract as an alternative of antimicrobial additives. Resistance genes were detected using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. Four of the six genes evaluated, *Tet(W)*, *Tet(M)*, *BlaTem* and *Erm(B)* were found in the gastrointestinal portions of both study groups. The *Tet(M)* gene was not detected in the rumen. It was discovered that bacteria with resistance genes can be established in the microbiome of the calves, independently of their diet, being that no antimicrobial additives were supplied. This study suggests that there are other pathways of resistance dissemination and these should be controlled and monitored as well as foods of animal production, because they may also pose a high risk to human health.

**KEYWORDS:** Antibiotics, Cattle, Resistance, Gastrointestinal Tract, Microbiota.

## 1 | INTRODUCCIÓN

Existe una preocupación global debido a las enfermedades causadas por microorganismos resistentes a los antibióticos, puesto que su tratamiento es cada vez menos efectivo, estas infecciones pueden darse debido al uso inadecuado de fármacos antimicrobianos tanto en la población humana, como en animales domésticos o de producción. (Davies J, 2010, p 417-433). El suministro indiscriminado de antibióticos puede llevar a la selección y multiplicación de bacterias portadoras de genes de resistencia en el entorno cotidiano (Rocha C, 2015), convirtiéndose en un problema de gran importancia a nivel mundial.

En otros estudios se ha demostrado que el uso de fármacos antibióticos como aditivos en la producción animal aumenta la probabilidad de transmisión de bacterias resistentes a los antimicrobianos convencionales en animales, y estas, a su vez, podrían ser transmitidas a los seres humanos a través de exposiciones ambientales como aire, agua y suelo. (Levy S.B., 1976, p. 583-588), (Noyes, N. R., 2016). Las bacterias no patógenas que portan genes de resistencia a antimicrobianos podrían suponer un

riesgo para la salud pública si llegan a establecerse dentro del microbioma del huésped humano, aumentando la probabilidad de transferencia horizontal de genes entre bacterias portadoras y patógenos causantes de graves infecciones. (Forsberg, K. J., 2012, p. 1107-1111), (Rolain, J. M., 2013).

A partir de esta problemática, el presente trabajo tiene el objetivo de evaluar la presencia de algunos genes de resistencia prohibidos en la producción animal de Brasil, en el ADN de las bacterias que hacen parte de la microbiota de diferentes porciones del tracto gastrointestinal de novillos lecheros alimentados con extracto de orégano como alternativa al uso de aditivos antimicrobianos, esto permite corroborar la existencia de otras vías de diseminación de resistencia diferentes a la alimentación, alertando a los sistemas de producción animal. Además de esto, este estudio permite analizar la influencia del extracto de orégano sobre el patrón de genes de resistencia encontrado en las diferentes porciones gastrointestinales.

## 2 | MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron recolectadas muestras provenientes de diferentes porciones del tracto gastrointestinal (Rumen, yeyuno, ciego y colon) de un grupo de novillos alimentados con un suplemento de extracto de orégano como alternativa al uso de aditivos antimicrobianos.

Se realizó el mismo procedimiento en un grupo control sin suplemento para evaluar la influencia del extracto sobre el patrón de resistencia encontrado en el grupo suplementado con extracto de orégano en su dieta. Es importante resaltar que no fue suministrado ningún tipo de aditivo antimicrobiano a los animales en estudio.

### **Antecedentes**

Se criaron 10 novillos, machos, de raza holandesa, bajo condiciones controladas, en corrales individuales, con piso forrado con heno. Durante sus primeros días de vida, estos animales consumieron calostro de calidad y posteriormente fueron alimentados con leche en polvo, concentrado y heno hasta completar 60 días desde su nacimiento. La dosis inicial del suplemento fue de 60 mg/kg de peso vivo de extracto de orégano (OREGO-STIM®, AdvetNutrição Animal, Bedfordshire, Inglaterra) y esta recibió un ajuste a cada dos semanas.

### **Extracción de ADN total**

El ADN total fue extraído a partir de 8 muestras obtenidas de un pool de novillos para cada uno de los diferentes compartimentos del tracto gastrointestinal. Fueron transferidos 200mg de cada muestra a un tubo *ependorf* de 2 mL previamente identificados, en seguida se centrifugaron a 3000 rpm durante 3 minutos. El sobrenadante fue descartado y este paso se repitió con algunas muestras hasta obtener la formación de una cantidad suficiente

de pellet en el tubo. Este procedimiento fue realizado siguiendo el protocolo establecido en el *E.Z.N.A.®Stool DNA Kit* de acuerdo con las instrucciones de su fabricante.

### Cuantificación de ADN

Todas las muestras de ADN fueron cuantificadas a través del *fluorímetroQuibit® 2.0* (Invitrogen, California, USA), previamente calibrado. Posteriormente, las muestras de ADN se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de aproximadamente -20°C.

### Detección de Genes de Resistencia

Las amplificaciones de AND fueron realizadas en un volumen de reacción de 25µL utilizando un “mix” de agua ultrapura, Buffer, Taq ADN polimerasa recombinante (5 U/µL) MgCl<sub>2</sub> [50 mM], dNTPs [10 mM], primers forward y reverse [10 µM], esta reacción se llevó a cabo siguiendo las etapas descritas en la table 1.

<b>Genes de resistencia</b>	<b>Desnaturalización Inicial</b>	<b>Paso 1</b>	<b>Paso 2</b>	<b>Paso 3</b>	<b>Extensión Final</b>	<b>Número de Ciclos</b>	<b>Referencia</b>
<b>Tet M</b>	94°C	94°C	52°C	72°C	72°C	35	Aarestrup (2000)
	5min	1min	1min	50seg	50seg		
<b>Tet W</b>	94°C	94°C	60°C	72°C	72°C	35	Aminov et al. (2001)
	5min	1min	1min	1min	5min		
<b>Tet L</b>	94°C	94°C	58°C	72°C	72°C	35	Frazzon et al. (2010)
	5min	1min	1min	1min	5min		
<b>Bla Tem</b>	95°C	95°C	48°C	72°C	72°C	40	Carlson et al. (1999)
	5min	1min	30seg	30seg	5min		
<b>Mrs C</b>	94°C	94°C	52°C	72°C	72°C	35	Werner et al. (2001)
	5min	1min	1min	1min	5min		
<b>Erm B</b>	93°C	93°C	52°C	72°C	72°C	35	Sutcliffe et al. (1996)
	3min	1min	1min	1min	5min		

**Tabla 1.** Condiciones de PCR convencional utilizadas en la detección de genes de resistencia

Para evaluar la presencia de los genes de resistencia se amplificó la región de interés utilizando cebadores específicos bajo las condiciones requeridas para cada gen de resistencia. (Tabla 2).

Los productos de PCR fueron fraccionados por electroforesis en gel de agarosa



coloreado con Bromuro de etidio y visualizados utilizando luz ultravioleta.

<i>Genes de resistencia</i>	<i>Secuencia de cebadores</i> 5' - 3'	<i>Pb*</i>	<i>Referencia</i>
<b>Tet M</b>	GTAAATAGTGTTCCTGGAG CTAAGATATGGCTCTAACAA	656	Aarestrup (2000)
<b>Tet W</b>	GAGAGCCTGCTATATGCCAGC GGGCGTATCCACAATGTTAAC	167	Aminov et al. (2001)
<b>Tet L</b>	ACTCGTAATGGTTGTAGTTGC TGTAACCTCCGATGTTTAACACG	628	Frazzon et al. (2010)
<b>Bla Tem</b>	GCACGAGTGGGTTACATCGA GGTCCTCCGATCGTTGTCAG	311	Carlson et al. (1999)
<b>Mrs C</b>	AAGGAATCCTTCTCTCTCCG GTAAACAAAATCGTTCCCG	343	Werner et al. (2001)
<b>Erm B</b>	GAAAAGGTACTIONCAACCAAATA AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC	639	Sutcliffe et al. (1996)

\*Pb (Pares de base): Tamaño del Fragmento amplificado.

**Tabla 2.** Secuencias Iniciadoras utilizados en las reacciones de PCR

### 3 | RESULTADOS

En el tracto intestinal (Yeyuno, ciego y colon) fueron detectados cuatro de los seis genes evaluados en la microbiota bacteriana del tracto gastrointestinal de los novillos con 60 días de vida.

Todas las muestras intestinales exhibieron resistencia a Tetraciclinas, Betalactámicos y Eritromicina como representante de la familia de los macrólidos, esta se evidencia por la presencia de los genes *Tet(W)*, *Tet(M)*, *BlaTem* y *Erm(B)*, sin ser suministrados como fármacos aditivos en su alimentación.

En el tracto gástrico fueron localizados tres genes, *Tet(W)*, *BlaTem* y *Erm(B)* también encontrados en los demás compartimentos evaluados, a excepción del gen *Tet(M)* que no fue detectado en el rumen, entre tanto, se presentó en las porciones intestinales correspondientes al yeyuno, colon y ciego. Los genes *Tet(L)* y *Mrs(C)* no fueron localizados en el microbioma gastrointestinal de los novillos.

El patrón de resistencia para los genes evaluados en la microbiota de las porciones del tracto gastrointestinal de los novillos fue idéntico para el grupo suplementado con

extracto de orégano respecto al grupo control. (Figura 1).

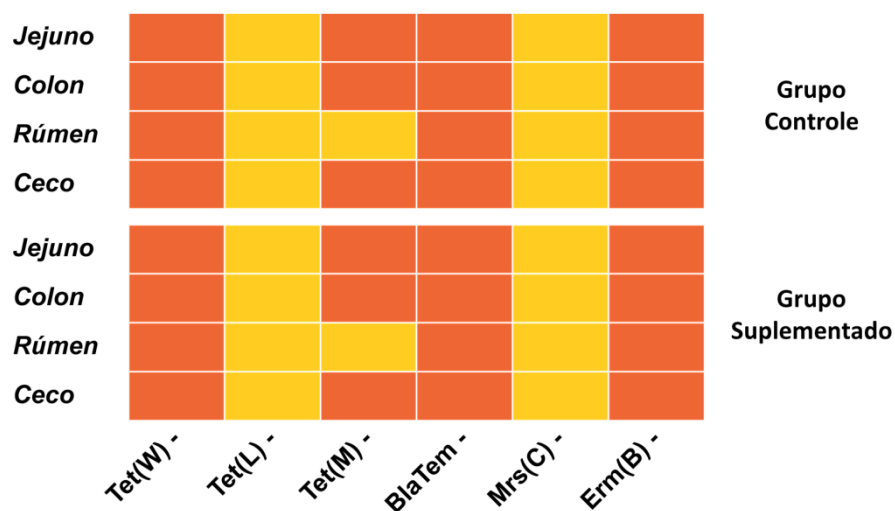


Figura 1. Patrón de Resistencia del grupo control y grupo de novillos cuya alimentación fue suplementada con extracto de orégano. Amarillo (Ausencia) y naranja (Presencia)

#### 4 | DISCUSIÓN

El uso de Tetraciclinas y Betalactámicos en la producción animal, está prohibido desde el año 2009, (MAPA, 2009) y de Eritromicina a partir del año 2012 en Brasil, (MAPA,2012) pues se han encontrado trazas de estos en productos alimenticios de origen animal como leche y huevos. (Pacheco-Silva E., 2014, p. 111-122). Estos fármacos antimicrobianos no fueron suministrados en la dieta de los individuos de este estudio con el fin de eliminar la variable alimentación como vía de ingreso de esta resistencia. Entre tanto, a través de los resultados positivos de los genes de resistencia *Tet(W)*, *Tet(M)*, *BlaTem* y *Erm(B)* se infiere que las bacterias presentes en el microbioma de los novillos pueden ser adquiridas a través de una vía de diseminación diferente a la alimentación.

Este estudio utilizó muestras agrupadas para explorar la variación de la resistencia en diferentes compartimentos gastrointestinales, puesto que estos presentan diferentes condiciones y pueden favorecer la proliferación de diferentes géneros microbianos, como el género *Prevotella sp.* que es el miembro del filo Bacteroidetes más abundante encontrado en el rumen, y encontrado en menor proporción en ciego y colon. (Thomas, M., 2017).

El gen *Tet(M)* se presentó en todas las muestras intestinales, entre tanto, no fue detectado en el rumen. En diversos estudios se ha comprobado que el pH del rumen se reduce debido a la producción de ácidos grasos de cadena corta, particularmente lactato. (Nagaraja, T. G., 1998, p. 287-298).

Se analizaron tres variantes distintas de genes de resistencia a las Tetraciclinas *Tet(W)*, *Tet(M)* y *Tet(L)*, siendo este último ausente en el tracto gastrointestinal de los novillos, una razón principal podría ser el mecanismo de resistencia utilizado por las

bacterias de esta microbiota, puesto que, el gen *Tet(L)* codifica para proteínas asociadas a la membrana bacteriana, que tienen como función expulsar las tetraciclinas de la célula, disminuyendo la concentración intracelular del antibiótico, mientras que los genes *Tet(W)* y *Tet(M)* codifican para proteínas que generan cambios en el ribosoma, como mecanismo de protección, impidiendo la adhesión del antibiótico. (Jara, M., 2007).

Como alternativa al uso de aditivos antimicrobianos, se optó por el suministro de extracto de orégano, el cual no influyó en el patrón de resistencia generado a partir de los genes evaluados en este estudio, esto se evidencia, al comparar los genes encontrados en el grupo suplementado y el grupo control. Es de gran interés la evaluación del resistoma completo presentado en estos animales, para tener un resultado más contundente sobre la influencia de este extracto como posible suplente de los antimicrobianos.

La investigación en esta área se ha visto limitada por los desafíos que acarrea la dificultad de obtener muestras representativas de cada novillo de forma individual. Entre los desafíos específicos se incluye la detección de pequeñas secuencias, como lo son los genes de resistencia, dentro de un género bacteriano presente disperso entre un ADN total.

Hasta donde se tiene conocimiento, ningún estudio ha rastreado específicamente la resistencia a antimicrobianos en ganado suplementado con extractos naturales en vez de aditivos antimicrobianos y compararlos con genes presentes en entornos ambientales. La escasez de evidencia limita la posibilidad de desarrollar políticas efectivas relacionadas con la inspección de efluentes ambientales ganaderos, igual que la restricción de antimicrobianos en el ganado, (Landers, T. F., 1974, p.4-22) con el objetivo de proteger la salud pública.

A medida que transcurren los años, se agotan las estrategias contra microorganismos resistentes, por lo tanto, el riesgo de la resistencia antimicrobiana debe ser evaluado y dado a conocer (Martínez, J., 2015, p. 116-123) para buscar estrategias de inspección que eviten la propagación de dichos genes.

## 5 | CONCLUSIONES

La comunidad científica requiere desarrollar una mejor comprensión del riesgo de los diferentes genes de resistencia.

Este estudio demuestra que es importante alertar a los sistemas de producción animal respecto a la necesidad de una inspección adecuada y control de calidad en sistemas de producción, no solamente de los productos de origen animal, sino también en residuos ambientales durante y después de los procesos para minimizar la probabilidad de transmisión horizontal entre bacterias de la microbiota con genes de resistencia adquiridos del entorno y bacterias patógenas que puedan causar enfermedades de gran importancia para la salud pública.



## 6 | PERSPECTIVAS

Teniendo en cuenta el riesgo potencial que puede representar las exposiciones ambientales como mecanismo de disseminación de resistencia, se hace necesario investigar el entorno de las diferentes regiones geográficas donde existen corrales de ganado, puesto que, habiendo una conectividad ambiental, esta podría extenderse a los hábitats humanos a través de escorrentías de aguas residuales, aplicación de estiércol en tierras de cultivo y partículas en suspensión por el viento. Esta investigación debe tener en cuenta diversas fuentes de contaminación con bacterias resistentes como muestras del entorno en la cría de animales y otros efluentes ambientales, incluso realizar una comparación del microbioma a lo largo de diversas generaciones para evaluar si estos genes pueden ser transmitidos verticalmente.

## REFERENCIAS

Aarestrup, F. M. *et al.* **Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark.** *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2000.

Aminov, R. I.; Garrigues-Jeanjean, N.; Mackie, R. I. **Molecular ecology of tetracycline resistance: development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins.** *Applied and environmental microbiology.* 2001.

Carlson, S. A. *et al.* **Detection of multiresistant *Salmonella typhimurium* DT104 using multiplex and fluorogenic PCR.** *Mol Cell Probes.* 1999.

Davies, J.; Davies, D. **Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiology and molecular biology reviews.** *MMBR.* 2010.

Forsberg, K. J. *et al.* **The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens.** *Science (New York, N.Y.).* 2012.

Jara, M. **Tetraciclinas: un modelo de resistencia antimicrobiana.** *Avances en Ciencias Veterinarias.* 2007.

Landers, T. F. *et al.* **A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential.** *Public health reports.* 2012.

Levy S. B.; FitzGerald G. B.; Macone A. B. **Changes in Intestinal Flora of Farm Personnel after Introduction of a Tetracycline-Supplemented Feed on a Farm.** *New England Journal of Medicine.* 1976.

Martínez, J., Coque, T. & Baquero, F. **What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes.** *NatRevMicrobiol.* 2015.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimentos (MAPA). **Instrução Normativa No 26**, publicada no DOU de 10/07/2009, Seção 1. Brasil, 09 de julho de 2009.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimentos (MAPA). **Instrução Normativa No 14**, publicada no DOU

de 18/05/2012, Seção 1. Brasil, 17 de maio de 2012.

Nagaraja T. G.; Chengappa, M. M. **Liver abscesses in feedlot cattle: a review.** Journal of Animal Science. 1998.

Noyes, N. R. *et al.* **Resistome diversity in cattle and the environment decreases during beef production.** eLife, 5, e13195. 2016.

Pacheco-Silva, E.; Souza, J. R.; Caldas, E. D. **Resíduos de medicamentos veterinários em leite e ovos.** Química Nova. 2014.

Rocha, Claudio; Reynolds, Nathanael D.; Simons, Mark P. **Resistencia emergente a los antibióticos: Una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud.** Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2015.

Rolain J. M. **Food and human gut as reservoirs of transferable antibiotic resistance encoding genes.** Frontiers in microbiology. 2013.

Sutcliffe, J. *et al.* **Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR.** Antimicrobial agents and chemotherapy. 1996.

Thomas, M. *et al.* **Metagenomic characterization of the effect of feed additives on the gut microbiome and antibiotic resistome of feedlot cattle.** Scientific reports. 2017.

Werner, G.; Hildebrandt, B.; Witte, W. **The newly described *msrC* gene is not equally distributed among all isolates of *Enterococcus faecium*.** Antimicrobial agents and chemotherapy. 2001.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Agentes de Controle 84  
Alcaloides 3, 7, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20  
Álcool Gel 83, 84, 85, 88, 89, 90  
*Allium Cepa* 18, 19, 21, 25, 29, 30, 31, 32, 33  
antibióticos 16, 92, 99  
Antibióticos 92  
Antigenicity 58  
Antimicrobial Subinhibitory Concentrations. 67  
Antimicrobiano 1, 2, 6, 9, 12, 13, 83, 88, 89, 93  
Antissepsia 83, 84, 89  
Artemia Salina 18, 19, 21, 24, 26, 31, 33, 34

### B

*Bacteroides Fragilis* 66, 67, 68, 73, 74, 81, 82  
Bioativos 3, 18, 19, 20, 29, 31  
Bovinos 92

### C

*Corynebacterium Pseudotuberculosis* 57, 58, 59, 63, 64  
Criptococose 35, 48, 49, 50, 52, 53  
Cryptococcus Neoformans 35, 36, 40, 42, 53, 54, 55, 56  
Cytokines 58, 59, 60, 62, 63, 64

### E

Endoglucanase 101, 102, 103, 105, 110  
Exoglucanase 101, 109  
Extrato Orgânico 12

### F

Fermentação 101, 102, 104, 107  
Fitoquímica 1, 4, 7, 10, 12, 14, 15, 17

### J

Jatobá 1, 2, 3, 4, 7, 9

## M

Microbiota 81, 91, 92, 93, 95, 97

Microrganismos 7, 2, 14, 43, 44, 47, 83, 84, 85, 88, 89, 101, 102, 104, 105, 107

*Mycobacterium Tuberculosis* 57, 58, 64

## P

Pathogenicity 35, 58, 66, 67, 68, 69, 73, 76, 77, 78, 80

Plantas Aquáticas 19, 33

Plantas Medicinais 2, 3, 9, 10, 11, 17, 20, 21, 30, 31

Purificação 101, 102, 105, 106, 108

## R

Resistência 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99

## S

*Staphylococcus Aureus* 1, 2, 10, 11, 14

## T

Toxicidade 12, 18, 20, 21, 22, 24, 25, 27, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 51, 52

Tracto Gastrointestinal 91, 92, 93, 95, 96

Tratamento 3, 4, 9, 13, 18, 20, 21, 25, 26, 30, 35, 36, 48, 50, 52, 67, 113

Tuberculosis 19, 57, 58, 59, 61, 62, 63, 64, 65, 113

## V

Virulência 9, 35, 36, 38, 39, 43, 44, 46, 47, 48, 113

 **Atena**  
Editora

**2 0 2 0**