

As Ciências Biológicas e da Saúde e seus Parâmetros 2

Christiane Trevisan Slivinski
(Organizadora)



Atena
Editora

Ano 2018

Christiane Trevisan Slivinski

(Organizadora)

**As Ciências Biológicas e da Saúde
e seus Parâmetros
2**

Atena Editora
2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

C569 As ciências biológicas e da saúde e seus parâmetros 2 [recurso eletrônico] / Organizadora Christiane Trevisan Slivinski. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018. – (As ciências biológicas e da saúde e seus parâmetros; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-85107-74-1

DOI 10.22533/at.ed.741180511

1. Ciências biológicas. 2. Saúde. I. Slivinski. Christiane Trevisan.

CDD 620.8

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

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.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

As Ciências Biológicas estão relacionadas a todo estudo que envolve os seres vivos, sejam eles micro-organismos, animais ou vegetais, bem como a maneira com que estes seres se relacionam entre si e com o ambiente. Quando se fala em Ciências da Saúde faz-se menção a toda área e estudo relacionada a vida, saúde e doença. Neste sentido, fazem parte das Ciências Biológicas e Saúde áreas como Biologia, Biomedicina, Ciências do Esporte, Educação Física, Enfermagem, Farmácia, Fisioterapia, Fonoaudiologia, Medicina, Medicina Veterinária, Nutrição, Odontologia, Saúde Coletiva, Terapia Ocupacional, Zootecnia, entre outras.

A preservação do meio ambiente, a manutenção da vida e a saúde dos indivíduos é foco principal dos estudos relacionados as Ciências Biológicas, onde pode-se navegar por um campo bem abrangente de pesquisas que vai desde aspectos moleculares da composição química dos organismos vivos até termos médicos utilizados para compreensão de determinadas patologias.

Neste ebook é possível observar essa grande diversidade que envolve os aspectos da vida. A preocupação de profissionais e pesquisadores das grandes academias em investigar formas de viver em equilíbrio com o meio ambiente, bem como aproveitando da melhor forma possível os benefícios ofertados pelos seres vivos.

Inicialmente são apresentados artigos que discutem os cuidados de enfermagem com os seres humanos, desde acidentes com animais peçonhentos, cuidados com a dengue, preenchimento de prontuários, cuidados com a higiene, atendimento de urgência e emergência e primeiros socorros, doenças sexualmente transmissíveis e hemodiálise.

Em seguida são apresentados alguns estudos relacionados a intoxicação com drogas e álcool, bem como aspectos envolvendo a farmacologia. Caracterização bioquímica de enzimas e sua relação com infarto, insegurança alimentar e obesidade infantil.

Ainda podem ser observados artigos que relatam sobre aspectos antimicrobianos e antioxidantes de vegetais e micro-organismos. Presença de fungos plantas. Caracterização do solo e frutas. Doenças em plantas. E para terminar, você irá observar algumas discussões envolvendo a fisioterapia no desenvolvimento motor de crianças, os benefícios da caminhada, além de tratamentos estéticos para o controle de estrias.

Christiane Trevisan Slivinski

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
O IMPACTO DAS MICOTOXINAS NA SEGURANÇA ALIMENTAR	
<i>Jakeline Luiz Corrêa</i>	
<i>Isabella Letícia Esteves Barros</i>	
<i>Flávia Franco Veiga</i>	
<i>Amanda Milene Malacrida</i>	
<i>Victor Hugo Cortez Dias</i>	
CAPÍTULO 2	7
ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA UTILIZADA NO PREPARO DE MEDICAMENTOS E/OU COSMÉTICOS	
<i>Helena Teru Takahashi Mizuta</i>	
<i>Keitia Couto dos Santos</i>	
<i>Josueli Camila Timbola</i>	
<i>Rodrigo Hinojosa Valdez</i>	
CAPÍTULO 3	15
ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE BASES GALÊNICAS DE DUAS FARMÁCIAS DE MANIPULAÇÃO DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ	
<i>Helena Teru Takahashi Mizuta</i>	
<i>Keitia Couto dos Santos</i>	
<i>Josueli Camila Timbola</i>	
<i>Rodrigo Hinojosa Valdez</i>	
CAPÍTULO 4	21
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VITRO DOS EXTRATOS DE PELARGONIUM GRAVEOLENS L'HÉR. SOBRE BACTÉRIAS CAUSADORAS DA ACNE VULGAR	
<i>Jéssica Camile Favarin</i>	
<i>Marivane Lemos</i>	
<i>Juliângela Mariane Schröder Ribeiro dos Santos</i>	
<i>Talíze Foppa</i>	
<i>Zípora Morgana Quintero dos Santos</i>	
<i>Vilmair Zancanaro</i>	
<i>Emyr Hiago Bellaver</i>	
CAPÍTULO 5	34
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO SORGO	
<i>Micaeli Silva Belgamazzi</i>	
<i>Larissa Tombini</i>	
<i>Letycia Lopes Ricardo</i>	
<i>Ricardo Andreola</i>	
<i>Graciene de Souza Bido</i>	
CAPÍTULO 6	42
AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE FUNGOS DA ANTÁRTICA EM XANTHOMONAS CITRI SUBSP. CITRI	
<i>Gabrielle Vieira</i>	
<i>Juliano Henrique Ferrarezi</i>	
<i>Daiane Cristina Sass</i>	
CAPÍTULO 7	53
ENDOPHYTIC FUNGI OF ARISTOLOCHIA TRIANGULARIS CHAM.: A MOLECULAR OVERVIEW	
<i>Andressa Katiski da Costa Stuart</i>	
<i>Rodrigo Makowiecky Stuart</i>	
<i>Ida Chapaval Pimentel</i>	

CAPÍTULO 8 58

ISOLAMENTO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM PLANTAS MEDICINAIS

Rebeca Rocha Silva
Valdiele de Jesus Salgado
Tatiana Reis dos Santos Bastos
Pâmela Beatriz Lima Oliveira
Bruna Luiza Bedoni Italiano
Gabriele Marisco da Silva

CAPÍTULO 9 69

PESQUISA DE FATORES DE VIRULÊNCIA EM ESCHERICHIA COLI PATOGÊNICA AVIÁRIA MULTIRRESISTENTE ISOLADAS DE COLIBACULOSE EM AVESTRUZ

Angela Hitomi Kimura
Vanessa Lumi Koga
Benito Guimarães de Brito
Kelly Cristina Taglieri de Brito
Gerson Nakazato
Renata Katsuko Takayama Kobayashi

CAPÍTULO 10 80

VÍRUS RÁBICO EM CÃES DOMÉSTICOS E SUA TRANSMISSÃO PARA O SER HUMANO

Aline Mendes Balieiro Diniz
Denise Santos Abelha
Márcio de Moraes Pereira Rosa
Sabrina Guimaraes Silva

CAPÍTULO 11 94

AValiação DA UTILIZAÇÃO DE ADUBAÇÕES NITROGENADAS NO CULTIVO DE HORTELÃ VISANDO O APERFEIÇOAMENTO DE SEU SISTEMA PRODUTIVO

Kleber Lopes Longhini
Anny Rosi Mannigel
Rafael Egea Sanches
Sonia Tomie Tanimoto

CAPÍTULO 12 103

AValiação ESPAÇO-TEMPORAL DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DE SOLO ALUVIAL ÀS MARGENS DO RIO UVU, CURITIBA-PR

Victoria Stadler Tasca Ribeiro
Silvia Schmidlin Keil

CAPÍTULO 13 118

COMPOSIÇÃO PROXIMAL, MINERAL E LIPÍDICA DE FRUTAS NATIVAS E EXÓTICAS

Antonio Eduardo Nicácio
Joana Schuelter Boeing
Érica Oliveira Barizão
Carina Alexandra Rodrigues
Jesuí Vergílio Visentainer
Liane Maldaner

CAPÍTULO 14 130

DIVERSIDADE FÚNGICA ASSOCIADA A INSETOS COLETADOS EM CULTIVO DE MORANGUEIRO

Carolina Gracia Poitevin
Mariana Vieira Porsani
Alex Sandro Poltronieri
Maria Aparecida Cassilha Zawadneak
Ida Chapaval Pimentel

CAPÍTULO 15..... 138

COMPARAÇÃO ENTRE O TESTE DA CAMINHADA DE SEIS MINUTOS E O INCREMENTAL SHUTTLE WALK TEST SOB AS VARIÁVEIS HEMODINÂMICAS EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Valmir Ferreira da Silva Júnior

Gabriel Martins de Araújo

Catharinne Angélica Carvalho de Farias

Francisco Assis Vieira Lima Júnior

Rodrigo Augusto Xavier de Sousa Barros

Rêncio Bento Florêncio

CAPÍTULO 16..... 152

EFEITOS DA INTERVENÇÃO FISIOTERAPÊUTICA NO DESEMPENHO MOTOR DE ESCOLARES COM DESORDEM COORDENATIVA DESENVOLVIMENTAL

Kátia Gama de Barros Machado

Giovana Flávia Manzotti

Siméia Palácio Gaspar

CAPÍTULO 17 159

O MICROAGULHAMENTO ASSOCIADO AO PEELING QUÍMICO NO TRATAMENTO DE ESTRIAS CORPORAIS

Isabela Mascarenhas de Oliveira

Hevellyn Mayara Fernandes Pereira

Renata Cappellazzo

SOBRE A ORGANIZADORA 169

PESQUISA DE FATORES DE VIRULÊNCIA EM *ESCHERICHIA COLI* PATOGÊNICA AVIÁRIA MULTIRRESISTENTE ISOLADAS DE COLIBACILOSE EM AVESTRUZ

Angela Hitomi Kimura

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Vanessa Lumi Koga

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Benito Guimarães de Brito

Laboratório de Saúde das Aves & Inovação Tecnológica, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor
Eldorado do Sul - Rio Grande do Sul

Kelly Cristina Taglieri de Brito

Laboratório de Saúde das Aves & Inovação Tecnológica, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor
Eldorado do Sul - Rio Grande do Sul

Gerson Nakazato

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

Renata Katsuko Takayama Kobayashi

Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina
Londrina – Paraná

indústria de aves, incluindo a estrutocultura. O objetivo desse trabalho foi avaliar o perfil de virulência por meio da investigação de genes de virulência presentes em *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) e *E. coli* diarreio gênica (DEC), e o perfil resistência aos antimicrobianos em amostras de APEC isoladas de colibacilose em avestruz. Nossos resultados demonstraram uma elevada frequência dos 5 genes relacionados à virulência de ExPEC, na qual todas amostras apresentavam o gene *hlyF*, quase todas as amostras apresentaram os genes *iroN* e *ompT* (90.9%), 19 amostras apresentaram *iss* (86.36%), e apenas 1 amostra apresentou o gene *iutA* (4.54%). Duas amostras também apresentaram o gene *eae* (relacionado a DEC), sendo essa amostra classificada como uma amostra de *E. coli* enteropatogênica atípica. De acordo com o perfil de resistência aos antimicrobianos, a maioria das amostras estudadas foram classificadas como multirresistentes (81.8%), sendo as maiores frequências de resistências relacionadas a tetraciclina (86.4%), sulfonamida, sulfametoxazol+trimetoprim e ampicilina (81.8%). Nosso trabalho demonstra que a maioria das nossas amostras de APEC isoladas de colibacilose em avestruz apresentam uma alta frequência de resistência, demonstrando a necessidade de um constante monitoramento quanto a presença de *E. coli* e seus fatores de

RESUMO: *Escherichia coli* patogênica aviária (APEC) é o agente etiológico da colibacilose aviária, responsável por grandes perdas na

virulência e resistência aos antimicrobianos, visando o controle da disseminação de patógenos multirresistentes na estrutiocultura.

PALAVRAS-CHAVE: colibacilose, APEC, avestruz, multirresistência.

ABSTRACT: Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) is the etiological agent of avian colibacillosis, responsible for large losses in the poultry industry, including the strutioculture. The objective of this work was to evaluate the virulence profile by investigating virulence genes present in extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) and diarrheogenic *E. coli* (DEC), and the antimicrobial resistance profile in APEC samples isolated from colibacillosis in ostrich. Our results demonstrated a high frequency of the 5 genes related to the virulence of ExPEC, in which all samples harbored the *hlyF* gene, almost all samples harbored the *iroN* and *ompT* genes (90.9%), 19 samples had *iss* (86.36%), and only 1 sample had the *iutA* gene (4.54%). Two samples also presented the *eae* gene (related to DEC), being this sample classified as a atypical enteropathogenic *E. coli*. According to the antimicrobial resistance profile, the majority of the studied samples were classified as multiresistant (81.8%), with the highest frequencies to tetracycline (86.4%), sulfonamide, sulfamethoxazole + trimethoprim and ampicillin (81.8%). Our work demonstrates that most of our APEC samples isolated from ostrich colibacillosis present a high frequency of resistance, demonstrating the need for constant monitoring of the presence of *E. coli* and its virulence factors and antimicrobial resistance, aiming at the control dissemination of multiresistant pathogens in the strutioculture.

KEYWORDS: colibacillosis, APEC, ostrich, multiresistance.

1 | INTRODUÇÃO

A estrutiocultura é designada como a criação de avestruzes, sendo a sua comercialização no mundo destinada principalmente a produção de carne, mas também a produção de couro, óleo e plumas. A criação de avestruz iniciou-se no Brasil na década de 90, com rápida expansão desta atividade, devido às condições climáticas favoráveis. No entanto, existe uma preocupação com relação ao estado sanitário dessas aves, pois pouco se conhece em relação a participação desses animais como reservatórios de microrganismos. Assim, essas aves são suscetíveis a diversas doenças infecciosas, entre elas a colibacilose (KNÖBL; FERREIRA, 1999).

A colibacilose, causada por *Escherichia coli* patogênica aviária (APEC), é responsável por altos prejuízos para a indústria aviária. A doença ocorre em aves nas formas septicêmicas causando principalmente lesões de aerossaculite, pericardite, peritonite, salpingite e localizada, provocando celulite, síndrome da cabeça inchada e onfalite (BRITO, 2012).

As linhagens patogênicas de *Escherichia coli* podem ser classificadas em ExPEC (*Escherichia coli* patogênica extraintestinal), na qual APEC faz parte, e DEC (*Escherichia*

coli diarreio gênica), a qual apresentam genes codificadores de fatores de virulência específicos e manifestações clínicas distintas (JOHNSON; RUSSO, 2002; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). A presença ou ausência dos marcadores moleculares caracteriza DEC em diferentes categorias: EPEC (*E. coli* enteropatogênica), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), EIEC (*E. coli* enteroinvasora), EHEC (*E. coli* enterohemorrágica), STEC (*E. coli* produtora de toxina Shiga), EAEC (*E. coli* enteroagregativa) e DAEC (*E. coli* de adesão difusa) (GOMES et al., 2016; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

Com o propósito de reduzir os prejuízos devido às doenças infecciosas a prática do uso de antimicrobianos durante a criação das aves tornou-se bastante utilizada com a finalidade de prevenir a ocorrência de infecções bacterianas. Vários estudos têm demonstrado que amostras de *E. coli* isoladas da produção de aves apresentam diferentes perfis de resistência múltipla aos antimicrobianos, os quais são frequentemente resistentes a mais de um antimicrobiano (HASAN et al., 2012; KOGA et al., 2015a).

A elevada taxa de resistência aos antimicrobianos, associada a diversos fatores de virulência tornaram *E. coli* um problema para a avicultura, devido aos prejuízos acarretados na indústria avícola. No entanto pouco se conhece a respeito do perfil de virulência e resistência em *E. coli* isolados de infecções em avestruzes. Este trabalho tem a finalidade de avaliar a presença de fatores de virulência e resistência aos antimicrobianos em amostras de APEC isolados de colibacilose em avestruz, visando o controle da disseminação de patógenos multirresistentes na avicultura.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Isolamento das Amostras

Foram estudadas 22 amostras de APEC isoladas de colibacilose em avestruzes. Essas amostras foram isoladas das aves nas agroindústrias do Paraná, no período de 2011 a 2014. Essas amostras pertencem à bacterioteca do Laboratório de Saúde das Aves e Inovação Tecnológica do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor.

2.2 Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos

O perfil de sensibilidade a antimicrobianos foi determinado pelo método qualitativo de disco difusão de Kirby-Bauer (1996), seguindo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008; CLSI, 2018).

Os seguintes antimicrobianos foram testados: ampicilina (10 µg), cefoxitina (30 µg), ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg), cloranfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg), tetraciclina (30 µg), nitrofurantoína (300 µg), ácido nalidíxico (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), norfloxacina (10 µg), enrofloxacina (10 µg), sulfonamida e sulfametoxazol – trimetoprim (1.25/23.75 µg) (Oxoid Ltd., Basingstoke, Hants, Reino Unido).

2.3 Pesquisa de Genes de Virulência

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizada para a pesquisa de genes codificadores de fatores de virulência de ExPEC e DEC, e também para a realização da classificação filogenética. O tamanho e a sequência dos iniciadores são apresentados na **Tabela 1**.

O método de PCR multiplex empregado para a detecção dos genes de virulência de DEC foi descrito por Aranda et al. (2007) e Paton e Paton (2008), com algumas modificações. Nessa metodologia utilizou-se 2.5 µl de DNA em 25 µl de mistura de reação, a qual foi adicionado 1.5 U *Taq* polimerase (Invitrogen®, Carlsbad, CA), 0.2 mM de cada desoxirribonucleotídeo trifosfatado (dNTP, Invitrogen®, Carlsbad, CA), 2.5 mM MgCl₂ e 2.5 µl de tampão de PCR 10X (Invitrogen®, Carlsbad, CA) e os primers apropriados (**Tabela 1**). As amostras foram submetidas em um termociclador (Applied Biosystems®), nas temperaturas de anelamento 52°C e 65°C, conforme descrito por Aranda e colaboradores (2007) e Paton e Paton (2008), respectivamente.

Já para a detecção dos genes de virulência de ExPEC, a metodologia adotada é a descrita por Johnson e colaboradores (2008). Foram utilizados tampão (1x), 0.2 mM de dNTP, 2.5 mM de MgCl₂, 1 µM dos iniciadores, 1.25U de *Taq* polimerase (Invitrogen®, Carlsbad, CA) e 1.5 µL de DNA. O material foi submetido a um ciclo de 94°C por 2 minutos, seguido de 25 ciclos de 94°C por 30 segundos, 63°C por 30 segundos, e 68°C por 3 minutos, e uma extensão final de 72°C por 10 minutos.

Além disso, as amostras foram classificadas em 4 grupos filogenéticos (A, B1, B2 ou D), baseando-se na presença ou ausência dos genes *chuA* e *yjaA*, e um fragmento de DNA (TSPE4.C2), seguindo o método de Clermont e colaboradores (2000). Para a reação da PCR foram utilizados 1x de tampão, 2.5mM de MgCl₂, 0.2mM de dNTP, 1µM de cada iniciador; 1.25U de *Taq* polimerase (Invitrogen®, Carlsbad, CA) e 2.5 µL de DNA. Esse material foi submetido a um ciclo de 94°C por 4 minutos e 30 ciclos de 5 segundos a 94°C, 10 segundos a 54°C, e uma extensão final de 5 minutos a 72°C.

Posteriormente, o produto de amplificação da PCR de cada metodologia foi submetido a eletroforese em gel de agarose 2% e visualizado em transiluminador UV.

Gene	Sequência dos iniciadores (5' a 3')	Fragmento (pb)	Referência
<i>iroN</i>	AAT CCG GCA AAG AGA CGA ACC GCC T GTT CGG GCA ACC CCT GCT TTG ACT TT	553	
<i>ompT</i>	TCATCCCGGAAGCCTCCCTCACTACTAT TAGCGTTTGCTGCACTGGCTTCTGATAC	496	Johnson et al., 2008
<i>hlyF</i>	GGCCACAGTCGTTTAGGGTGCTTACC GGCGGTTTAGGCATTCCGATACTCAG	450	
<i>iss</i>	CAG CAA CCC GAA CCA CTT GAT G AGC ATT GCC AGA GCG GCA GAA	323	
<i>iutA</i>	GGC TGG ACA TCA TGG GAA CTG G CGT CGG GAA CGG GTA GAA TCG	302	
<i>eaeA</i>	CTGAACGGCGATTACGCGAA CCAGACGATACGATCCAG	917	
<i>bfpA</i>	AATGGTGCTTGCGCTTGCTGC GCCGCTTTATCCAACCTGGTA	326	
<i>elt</i>	GGCGACAGATTATACCGTGC CGGTCTCTATATCCCTGTT	450	Aranda et al., 2004
<i>est</i>	ATTTTTMTTCTGTATTRTCTT CACCCGGTACARGCAGGATT	190	
<i>ipaH</i>	GTTCCCTTGACCGCCTTCCGATACCGTC GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC	600	
<i>stx</i>	GAGCGAAATAATTTATATGTG TGATGATGGCAATTCAGTAT	518	Toma et al., 2003
<i>eaeA</i>	GACCCGGCACAAGCATAAGC CCACCTGCAGCAACAAGAGG	384	
<i>stx1</i>	ATAAATCGCCATTCGTTGACTAC AGAACGCCCACTGAGATCATC	180	Paton e Paton, 1998
<i>stx2</i>	GGCACTGTCTGAAACTGCTCC TCGCCAGTTATCTGACATTCTG	255	
<i>ehxA</i>	GCATCATCAAGCGTAGCTTCC AATGAGCCAAGCTGGTTAAGCT	534	
<i>chuA</i>	GAC GAA CCA ACG GTC AGG AT TGC CGC CAG TAC CAA AGA CA	279	
<i>yjaA</i>	TGAAGT GTC AGG AGA CGC TG ATG GAG AAT GCG TTC CTC AAC	211	Clermont et al., 2000
TSPE4.C2	GAG TAA TGT CGG GGC ATT CA CGC GCC AAC AAA GTA TTA CG	152	

Tabela 1 - Genes pesquisados para ExPEC, DEC e classificação filogenética, com seus respectivos iniciadores e tamanho

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Brasil, estima-se que os prejuízos decorrentes da colibacilose aviária na cadeia produtiva das aves ultrapassem a soma de cem milhões de dólares por ano (BRITO, 2012). *E. coli* é uma das bactérias que tem tido sua virulência associada ao uso de antimicrobianos na avicultura (MANGES; JOHNSON, 2012; MELLATA, 2013). Porém, ainda há poucos estudos sobre o papel de *E. coli* como importante patógeno em infecções em avestruzes.

De acordo com Clermont e colaboradores (2000), *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) normalmente pertencem ao grupo filogenético B2 e com uma menor frequência ao grupo D, enquanto amostras comensais normalmente pertencem aos grupos A e B1. No entanto, amostras de APEC normalmente pertencem aos grupos filogenéticos A, B1 e D (JOHNSON et al., 2008). Nossos resultados corroboram com esses dados, na qual o grupo mais prevalente nas amostras de avestruz pertenceram aos grupos comensais B1 (77.27%) e A (13.63%), ao contrário do grupo mais virulento D (9.09%) (**Tabela 2**). Esses dados também corroboram com dados sobre APEC isolados de colibacilose em galinhas, como o trabalho publicado por Kobayashi e colaboradores (2011), na qual a maioria das amostras de APEC pertencem aos grupos filogenéticos B1 (30.8%) e A (27.6%).

Johnson e colaboradores (2008) demonstraram que amostras de APEC podem ser distinguidas de *E. coli* de origem fecal em aves por meio da pesquisa de 5 genes codificadores de fatores de virulência, normalmente presentes em plasmídios (*iutA*, *hlyF*, *iss*, *iroN* e *ompT*). Nossos resultados demonstraram a elevada frequência dos 5 genes de virulência de ExPEC pesquisados, a qual todas amostras apresentavam o gene *hlyF*, a maioria das amostras apresentaram o gene *iroN* e *ompT* (90.9%), 19 amostras apresentaram *iss* (86.36%), e apenas 1 amostra apresentou o gene *iutA* (4.54%). Em um trabalho realizado por Knöbl e colaboradores (2001) de 8 amostras de APEC isolados de pneumonia caseosa em avestruz, nenhuma amostra apresentou o gene *hly*. Vários trabalhos realizados com APECs isolados de infecções em frangos demonstraram uma alta frequência desses genes de virulência (KOBAYASHI et al., 2011; SOLÀ-GINÉS et al., 2015; SUBEDI et al., 2018).

Estudos demonstrando a co-existência de fatores de virulência de APEC e DEC na mesma amostra já foram relatados (RAMADAN; AWAD; ATEYA, 2016; MOHAMED et al., 2017). Assim, quanto a pesquisa de genes codificadores de fatores de virulência de DEC, somente 9.09% das amostras continham o gene *eae* (que codifica a intimina, responsável pela aderência íntima da bactéria à célula do hospedeiro), sendo caracterizadas como EPEC (GOMES et al., 2016; ARANDA et al., 2007). A presença ou ausência do gene *bfpA*, subclassifica esta linhagem em EPEC típica e EPEC atípica (GOMES et al., 2016; ARANDA; FAGUNDES-NETO; SCALETSKY, 2004; TOMA et al., 2003). Nossas amostras não continham o gene *bfpA*, portanto não possuem o plasmídeo EAF (EPEC adherence factor) o qual é característico de EPEC

típica (ARANDA et al., 2007).

Os demais genes de virulência pesquisados (*elt*, *est* - enterotoxinas de ETEC; *ipaH* - antígeno de plasmídeo de invasão H encontrado em EIEC e *Shigella*; *stx1*, *stx2* - Shiga toxinas 1, 2 de STEC; *ehxA* - enterotoxina de EHEC), não foram encontrados em nenhuma das amostras.

Amostras	CF ^a	Genes Expec					Gene DEC
		<i>hlyF</i>	<i>iutA</i>	<i>iss</i>	<i>ompT</i>	<i>iroN</i>	<i>eaeA</i>
B1		+	-	-	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	+	+	+	+	+
B1		+	-	+	+	+	+
B1		+	-	+	+	+	-
A		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
D		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	-	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
A		+	-	-	-	-	-
D		+	-	+	+	+	-
A		+	-	+	-	-	-
B1		+	-	+	+	+	-
B1		+	-	+	+	+	-
Total		22	1	19	20	20	2

Tabela 2 – Pesquisa de genes codificadores de fatores de virulência de ExPEC e DEC entre as amostras de *E. coli* isoladas de avestruz.

^aCF: classificação filogenética

A terapia antimicrobiana é uma importante ferramenta na redução da incidência e mortalidade associados a colibacilose aviária (ŠČERBOVÁ; LAUKOVÁ, 2016). Além da finalidade terapêutica, várias pesquisas evidenciaram os benefícios promovidos pela utilização de antimicrobianos na alimentação animal, sendo estes administrados como aditivos em ração ou na água de beber das aves de granja, em doses subterapêuticas

(GASKINS; COLLIER; ANDERSON, 2002; PHILLIPS et al., 2004; BRUMANO; GATTÁS, 2009). Porém, o uso indiscriminado de antimicrobianos tem levado à seleção de bactérias resistentes. Em relação à resistência antimicrobiana, as amostras isoladas de avestruz apresentaram uma alta frequência de resistência, sendo que 18 amostras apresentaram um perfil de multirresistência, sendo resistente a 3 ou mais classes de antimicrobianos. Em um trabalho realizado na Eslováquia encontraram 90% de *E. coli* isolada de fezes de avestruz resistente a 3 ou mais antimicrobianos (ŠČERBOVÁ; LAUKOVÁ, 2016).

Nossos resultados apresentaram uma alta frequência de resistência principalmente para tetraciclina (86,4%), seguido de sulfonamida, sulfametoxazol + trimetoprim e ampicilina (81,8%) (**Figura 1**). Todas as amostras foram sensíveis para amoxicilina + ácido clavulânico, cefotaxima, ceftazidima e cefoxitina. Estudos também realizados no norte do estado do Paraná tem relatado perfil semelhante de multirresistência a estes antibióticos em *E. coli* isolada de carcaças de frango de granja (KOGA et al., 2015a; KOGA et al., 2015b). Isso sugere uma possível semelhança entre a criação e manejo de avestruzes com outras aves de corte.

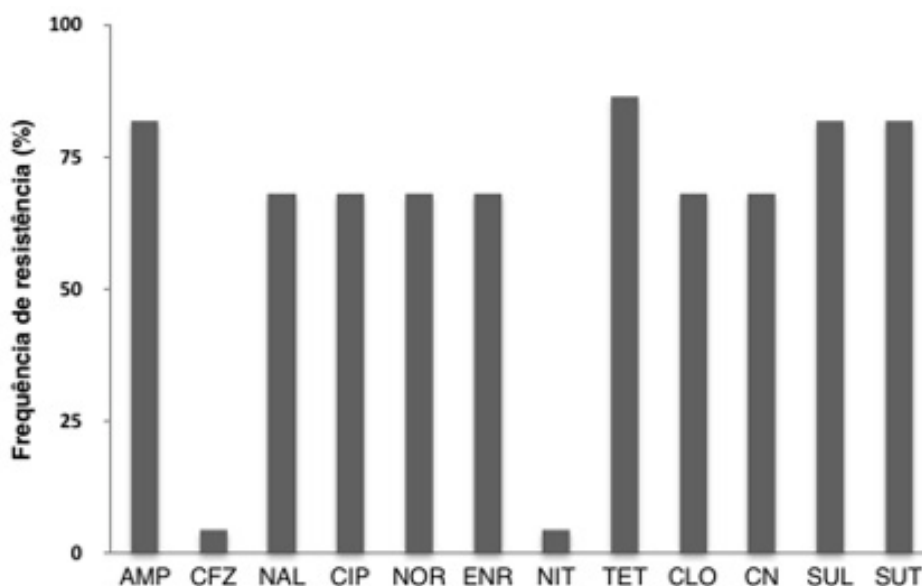


Figura 1 – Frequência de resistência aos antimicrobianos das amostras isoladas de avestruz.

AMP, ampicilina; CFZ, cefazolina; NAL, ácido nalidíxico; CIP, ciprofloxacina; NOR, norfloxacina; ENR, enrofloxacina; NIT, nitrofurantoína; TET, tetraciclina; CLO, cloranfenicol; CN, gentamicina; SUL, sulfonamida; SUT, sulfametoxazol+trimetoprim

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos resultados indicam que amostras de APEC isolados de colibacilose em avestruz apresentam um perfil de alta frequência de resistência e genes de virulência. Uma vez que são poucos os trabalhos relacionados ao perfil de virulência e resistência em agentes patogênicos na produção de avestruzes, nosso trabalho

mostra a importância do monitoramento e controle quanto ao uso de antimicrobianos na produção aviária, a fim de obter êxito no tratamento da colibacilose e evitar gastos e perdas na estruoticultura.

REFERÊNCIAS

- ARANDA, K. R. S.; FAGUNDES-NETO, U.; SCALETSKY, I. C. A.. **Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella spp.*** Journal of Clinical Microbiology, [s.l.], v. 42, n. 12, p.5849-5853, 1 dez. 2004. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.42.12.5849-5853.2004>.
- ARANDA, K. R. S. et al. **Single multiplex assay to identify simultaneously enteropathogenic, enteroaggregative, enterotoxigenic, enteroinvasive and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains in Brazilian children.** Fems Microbiology Letters, [s.l.], v. 267, n. 2, p.145-150, fev. 2007. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00580.x>.
- BAUER, A.W., et al. **Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.** American Journal Clinical Pathology, v.45, n.4, p.493-496, apr. 1996.
- BRITO, B.G. **Celulite em frangos.** Revista do Avisite, v.59, p.44-48, 2012.
- BRUMANO, G.; GATTÁS, G. **Implicações sobre o uso de antimicrobianos em rações de monogástricos.** Revista Eletrônica Nutrimine, v.6, n. 3, p.953 – 959, 2009.
- CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. **Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group.** Applied and Environmental Microbiology, v. 66, n. 10, p. 4555 – 4558, 2000.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**; twenty eight informational supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008. **Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**; 3rd ed. CLSI Document M31-A3. Wayne, PA.
- GASKINS, H.R.; COLLIER, C.T.; ANDERSON, D.B. **Antibiotics as growth promotants: mode of action.** Animal Biotechnology, [s.l.], v. 13, n. 1, p.29-42, jul. 2002. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1081/abio-120005768>.
- GOMES, T.A.T. et al. **Diarrheagenic *Escherichia coli*.** Brazilian Journal of Microbiology, [s.l.], v. 47, p.3-30, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>.
- HASAN, B., et al. **Antimicrobial drug-resistant *Escherichia coli* in wild birds and free-range poultry, Bangladesh.** Emerging Infectious Disease, [s.l.], v. 18, n. 12, p.2055-2058, dez. 2012. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1812.120513>.
- JOHNSON, T.J., et al. **Identification of minimal predictors of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool.** Journal of Clinical Microbiology, [s.l.], v. 46, n. 12, p.3987-3996, 8 out. 2008. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.00816-08>.
- JOHNSON, J. R.; RUSSO, T.A. **Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: “The other bad *E. coli*”.** Journal of Laboratory and Clinical Medicine, [s.l.], v. 139, n. 3, p.155-162, mar. 2002. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1067/mlc.2002.121550>

- KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. **Pathogenic *Escherichia coli***. Nature Reviews Microbiology, [s.l.], v. 2, n. 2, p.123-140, fev. 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro818>.
- KOGA, V.L., et al., 2015a. **Evaluation of the antibiotic resistance and virulence of *Escherichia coli* strains isolated from chicken carcasses in 2007 and 2013 from Paraná, Brazil**. Foodborne Pathogens and Disease, [s.l.], v. 12, n. 6, p.479-485, jun. 2015. <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2014.1888>.
- KOGA, V.L., et al., 2015b. **Comparison of antibiotic resistance and virulence factors among *Escherichia coli* isolated from conventional and free-range poultry**. Biomed Research International [s.l.], v. 2015, p.1-8, 2015. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/618752>.
- KOBAYASHI, R.K.T., et al., 2011. **EcoR phylogenetic analysis and virulence genotyping of avian pathogenic *Escherichia coli* strains and *Escherichia coli* isolates from commercial chicken carcasses in Southern Brazil**. Foodborne Pathogens and Disease, [s.l.], v. 8, n. 5, p.631-634, mai. 2011. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2013.1533>.
- KNÖBL, T.; FERREIRA, A.J.P. **Influenza aviária: participação dos avestruzes como fonte de infecção da doença/ Avian influenza: ostriches as a disease infection source**. Rev. Educ. contin. CRMV-SP/Continuous Education Journal CRMV-SP, São Paulo, v. 2, fascículo 3, p. 053 - 058. 1999
- KNÖBL, T. et al. **Virulence properties of *Escherichia coli* isolated from ostriches with respiratory disease**. *Veterinary Microbiology*, [s.l.], v. 83, n. 1, p.71-80, out. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-1135\(01\)00403-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-1135(01)00403-5).
- MANGES, A.R.; JOHNSON, J.R. **Foodborne origins of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections**. Clinical Infectious Diseases, [s.l.], v. 55, n. 5, p.712-719, 21 maio 2012. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cis502>.
- MELLATA, M. **Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends**. Foodborne Pathogens and Disease, [s.l.], v. 10, n. 11, p.916-932, nov. 2013. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2013.1533>.
- MOHAMED, L. et al. **Virulence traits of avian pathogenic (APEC) and fecal (AFEC) *E. coli* isolated from broiler chickens in Algeria**. *Tropical Animal Health and Production*, [s.l.], v. 50, n. 3, p.547-553, 21 nov. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-017-1467-5>.
- PATON, A.W., PATON, J.C., **Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfb*₀₁₁₁, and *rfb*₀₁₅₇**. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 36, n. 2, 598-602, 1998.
- PHILLIPS, I., et al. **Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A clinical review of published data**. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, [s.l.], v. 53, n. 1, p.28-52, 4 dez. 2003. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg483>.
- RAMADAN, H.; AWAD, A.; ATEYA, A. **Detection of phenotypes, virulence genes and phylotypes of avian pathogenic and human diarrheagenic *Escherichia coli* in Egypt**. *The Journal of Infection in Developing Countries*, [s.l.], v. 10, n. 06, p.584-591, 30 jun. 2016. *Journal of Infection in Developing Countries*. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.7762>.
- ŠČERBOVÁ, J.; LAUKOVÁ, A. ***Escherichia coli* strains from ostriches and their sensitivity to antimicrobial substances**. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, [s.l.], v. 19, n. 2, p.415-423, 1 jan. 2016. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/pjvs-2016-0052>.
- SOLÀ-GINÉS, M., et al. **Diversity of multi-drug resistant avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) causing outbreaks of colibacillosis in broilers during 2012 in Spain**. *Plos One*, [s.l.], v. 10, n. 11, p.e0143191, 23 nov. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/>

journal.pone.0143191.

SUBEDI, M., et al. **Antibiotic resistance pattern and virulence genes content in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) from broiler chickens in Chitwan, Nepal.** *Bmc Veterinary Research*, [s.l.], v. 14, n. 1, p.1-6, 27 mar. 2018. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s12917-018-1442-z>.

TOMA, C. et al. **Multiplex PCR Assay for Identification of Human Diarrheagenic *Escherichia coli*.** *Journal of Clinical Microbiology*, [s.l.], v. 41, n. 6, p.2669-2671, 1 jun. 2003. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.41.6.2669-2671.2003>.

SOBRE A ORGANIZADORA

Christiane Trevisan Slivinski - Possui Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2000), Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2007) e Doutorado em Ciências - Bioquímica pela Universidade Federal do Paraná (2012). Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Biotecnologia, atuando principalmente nos seguintes temas: inibição enzimática; fermentação em estado sólido; produção, caracterização bioquímica e purificação de proteínas (enzimas); e uso de resíduo agroindustrial para produção de biomoléculas (biosurfactantes). É professora na Universidade Estadual de Ponta Grossa nas disciplinas de Bioquímica e Química Geral desde 2006, lecionando para os cursos de Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas, Farmácia, Educação Física, Enfermagem, Odontologia, Química, Zootecnia, Agronomia, Engenharia de Alimentos. Também leciona no Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais – CESCAGE desde 2012 para os cursos de Fisioterapia, Odontologia, Farmácia, Nutrição, Enfermagem e Agronomia, nas disciplinas de Bioquímica, Fisiologia, Biomorfologia, Genética, Metodologia Científica, Microbiologia de Alimentos, Nutrição Normal, Trabalho de Conclusão de Curso e Tecnologia de Produtos Agropecuários. Leciona nas Faculdades UNOPAR desde 2015 para o curso de Enfermagem nas disciplinas de Ciências Celulares e Moleculares, Microbiologia e Imunologia.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-85107-74-1

