

Revisão de literatura – ionóforos e seus efeitos na população bacteriana intestinal de frangos de corte – *Clostridium perfringens*

INTRODUÇÃO

Os ionóforos poliéteres são compostos que se originam de processos fermentativos de substratos por microrganismos específicos. São tradicionalmente usados na produção de frangos de corte como ferramenta muito efetiva no controle e prevenção da coccidiose, uma doença parasitária intestinal causada por protozoários do gênero *Eimeria* spp com grande impacto em desempenho zootécnico. Os ionóforos disponíveis para uso em avicultura como anticoccidianos são: monensina, salinomomicina, semduramicina, maduramicina, lasalocida e narasina. É inquestionável e amplamente conhecida a eficácia dos ionóforos para controle da coccidiose.

Os compostos ionóforos, indicados primordialmente como anticoccidianos, além de atuar sobre os diferentes estágios da *Eimeria* no lumen intestinal, também têm ação sobre bactérias Gram positivas, alterando a permeabilidade da membrana citoplásmica dos íons cálcio, potássio, sódio e magnésio. As bactérias Gram negativas não são suscetíveis aos ionóforos, devido às diferenças na conformação de suas paredes e membranas (1). Os ionóforos, de modo geral, têm ação inibitória contra *Clostridium*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Eubacterium*, *Propionibacterium* e muitas outras bactérias Gram positivas do ambiente intestinal (2).

Dentre os gêneros bacterianos nos quais os ionóforos são capazes de exercer seu efeito antimicrobiano ressalta-se *Clostridium perfringens*, bactéria que, produzindo suas toxinas necrotizantes é causadora da enterite necrótica, importante enfermidade de frangos de corte.

Ao contrário da eficácia anticoccidiana dos ionóforos, que é amplamente reconhecida, a eficácia antimicrobiana dos ionóforos em nível intestinal é bem menos estudada e avaliada e possivelmente tem sido sobrevalorizada. Um exemplo é a crescente produção de frangos sem antibióticos melhoradores de desempenho. Sabe-se que neste tipo de produção, em empresas que ainda fazem o uso de anticoccidianos ionóforos e químicos, as questões entéricas e enterite necrótica vem sendo os problemas sanitários frequentemente reportados, o que evidencia que não se pode creditar apenas aos ionóforos o efeito antimicrobiano e o controle da enterite necrótica.

Concentração inibitória mínima (CIM) dos ionóforos para *Clostridium perfringens* e controle da enterite necrótica

Concentração Inibitória Mínima (CIM) é a menor concentração de um antimicrobiano capaz de inibir o crescimento bacteriano *in vitro*.

A simples apreciação dos valores de concentração inibitória mínima nos permite observar que as doses de todos os ionóforos na ração, como an-ticoccidianos, estão acima dos valores de CIM para *Clostridium perfringens* (Tabela 1). Como *Clostridium perfringens* (população heterogênea com várias cepas) faz parte da microbiota intestinal normal de frangos de corte, pode-se inferir que os valores de CIM encontrados *in vitro* possuem relação direta com a inibição deste microrganismo no lúmen intestinal. **Tabela 1** - Concentração Inibitória Mínima - CIM (ppm) dos ionóforos para *Clostridium perfringens*, doses dos ionóforos registradas no Brasil (MAPA) isoladamente ou em associações com nicarbazina para frangos de corte.

IONÓFORO	CIM (CLOSTRIDIUM PERFRINGENS) MG/L OU PPM	DOSE IONÓFORO REGISTRADA NO BRASIL (PPM)	DOSE DO IONÓFORO EM ASSOCIAÇÃO COM NICARBAZINA REGISTRADA NO BRASIL (PPM)
SALINOMICINA	0,5 - 1 (3)	44 a 84 (vários fornecedores)	50
MONENSINA	0,25 - 4 (4)	100 a 120 (vários fornecedores)	40 a 50
NARASINA	0,1 - 4 (5)	60 a 80	40 a 70
SEMDURAMICINA	10 (6)	20 a 25	15 a 18
MADURAMICINA	1 (7)	5 a 6 (vários fornecedores)	3,75
LASALOCIDA	0,06 - 4 (bactérias Gram positivas. (8)	75 a 125	Não há associação registrada com lasalocida

Um ponto importante a ser observado nos trabalhos que avaliaram CIM de ionóforos é em relação às cepas de *Clostridium perfringens* utilizadas. Alguns estudos e relatos não especificam se as cepas utilizadas eram de aves saudáveis e/ou provenientes de surtos de enterite necrótica e há muita diferença. Em intestinos de aves saudáveis a população de *Clostridium perfringens* é variada e composta por múltiplas cepas, já em intestinos de aves afetadas há a predominância de um clone único desta bactéria - *Clostridium perfringens* virulentos e que expressam fatores de virulência, como a toxina netB (9).

Um estudo publicado em 2003 (10), com inoculação de frangos de corte com cepa de *Clostridium perfringens* (dia 14 ao dia 16 do estudo) isolado de surto de enterite necrótica, avaliou a bacitracina metileno dissalicilato -BMD (55 ppm), narasina (70 ppm), e associação de BMD e narasina nas doses citadas na redução de escore de lesão de enterite necrótica e mortalidade por enterite necrótica comparadas a um grupo controle (inoculado e não tratado).

O que foi verificado (Tabela 2) é que os escores de lesão para enterite necrótica e mortalidade por essa causa, foram reduzidos (com diferença estatística) apenas nos grupos que receberam o antibiótico melhorador de desempenho (BMD) e no grupo com a associação de BMD + narasina. Esses dados sugerem uma ação limitada do ionóforo (neste estudo a narasina) no controle da enterite necrótica.

Tabela 2 – Mortalidade e escore de lesão para enterite necrótica em frangos de corte em estudo de eficácia de BMD – bacitracina metileno dissacililato, narasina e associação de BMD e narasina. Adaptado de Brennan et al. 2003 (10).

TRATAMENTOS	ESCORE MÉDIO DE LESÃO DE ENTERITE NECRÓTICA AOS 17 DIAS (3 DIAS P.I)	ESCORE MÉDIO DE LESÃO DE ENTERITE NECRÓTICA EM TODO O PERÍODO DO ESTUDO (41 DIAS)	MORTALIDADE POR ENTERITE NECRÓTICA (%)
NÃO DESAFIADO CP E NÃO TRATADO	0,4 b	1,6 b	2,87 ab
DESAFIADO CP E NÃO TRATADO	1,8 a	2,7 a	4,68 a
DESAFIADO CP E TRATADO COM NARASINA 70 PPM	1,9 a	2,2 a	1,13 bc
DESAFIADO CP E TRATADO COM BMD 55 PPM	0,2 b	0,5 c	0,25 cd
DESAFIADO CP E TRATADO COM NARASINA 70 PPM E BMD 55 PPM	0,0 b	0,0 c	0,0 d

A hipótese mais aceita é que os anticoccidianos ionóforos auxiliam na redução de bactérias intestinais Gram positivas, incluindo *Clostridium perfringens*, mas não as eliminam. A contribuição antimicrobiana dos ionóforos parece ser por modulação populacional e não por eliminação.

Os efeitos antimicrobianos dos ionóforos que aportam ao controle de lesões de enterite necrótica aparentemente podem se perder quando a dose na ração é reduzida. Lanckriet et al (2010) relataram que em frangos de corte sob condições de desafio, as lesões diminuíram significativamente em cada grupo experimental que recebeu ionóforos simples via ração (narasina 70 ppm, lasalocida 75 ppm, salinomicina 70 ppm, e maduramicina 5 ppm). No mesmo experimento, o produto combinado narasina-nicarbazina, a 50 ppm de cada princípio ativo, não diminuiu significativamente o número de aves com lesões de enterite necrótica quando comparado com o grupo controle desafiado, indicando que a dose reduzida da narasina (50 ppm neste caso) possivelmente está abaixo do limiar de eficácia microbiológica (11) .

Considerações finais

A simples observação dos valores das CIM – Concentrações Inibitórias Mínimas (in vitro) dos ionóforos frente ao *Clostridium perfringens* mostra que todos ionóforos, nas doses em que são usados como anticoccidianos, já atingem concentrações suficientes para inibição desta bactéria no lúmen intestinal, porém, os estudos e informações reunidas nesta revisão bibliográfica sugerem um efeito limitado dos ionóforos no controle da enterite necrótica / inibição do *Clostridium perfringens* in vivo.

A contribuição dos ionóforos na redução de enterite necrótica e na translocação bacteriana do *Clostridium perfringens* a partir do intestino tem como base principal a preservação da barreira epitelial entérica. Isto se deve, em primeiro lugar, à sua eficácia como anticoccidiano – até mesmo porque, a partir da visão epidemiológica, a coccidiose é o mais frequente e importante fator predisponente à enterite necrótica (12) e, secundariamente, à modulação da microbiota.

Referências Bibliográficas consultadas

(1) Bakker, E.P. Mechanism of Action of Antibacterial Agents. [ed.] F. E. Hahn (ed.). Mechanism of Action of Antibacterial Agents. Heidelberg : Springer, 1979, pp. 67-68.

(2) Polyether ionophores: broad-spectrum and promising biologically active molecules for the control of drug-resistant bacteria and parasites. Kevin Dion A. II, Damaris AF Meujo & Mark T Hamann. 2, 2009, Expert Opinion on Drug Discovery, Vol. 4, pp. 109-146.

(3) EFSA (European Food Safety Authority), 2004. Opinion of the scientific Panel on Additives and Products or substances used in Animal Feed on a request from the Commission on the re-evaluation of Sacox 120 microGranulate in accordance with article 9G of Council Directive 70/524/EEC. EFSA Journal 2004;2(7):76, 49 pp.

(4) EFSA (European Food Safety Authority), 2004. Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the request of the Commission on the reevaluation of coccidiostat Elancoban in accordance with article 9G of Council Directive 70/524/EEC. EFSA Journal 2004;42, 61pp.

(5) EFSA (European Food Safety Authority), 2007. Cross-contamination of non-target feedingstuffs by narasin authorised for use as a feed additive. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. EFSA Journal (2007) 552, 1-35.

(6) EC (European Commission), 2002. Report of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the use of semduramicin sodium in feedingstuffs for chickens for fattening, Adopted on 17 April 2002.

(7) EFSA (European Food Safety Authority), 2011. Scientific Opinion on safety and efficacy of Cygro® 10G (maduramicin ammonium) for chickens for fattening. EFSA Journal 2011;9(1):1952.

(8) EFSA (European Food Safety Authority), 2017. Safety and efficacy of Avatec®150G (lasalocid A sodium) for chickens for fattening and chickens reared for laying, and modification of the terms of authorisation for chickens for fattening, chickens reared for laying, turkeys for fattening, minor avian species (pheasants, guinea fowl, quails and partridges) except laying birds.

(9) Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. L. Timbermont, F. Haesebrouck, R. Ducatelle & F. Van Immerseel, 2011, Avian Pathology, 40:4,341-347.

(10) The Efficacy of Bacitracin Methylene Disalicylate when Fed in Combination with Narasin in the Management of Necrotic Enteritis in Broiler Chickens. J. Brennan, J. Skinner, D. A. Barnum, and J. Wilson. 2003, Poultry Science 82:360-363.

(11) The effect of commonly used anticoccidials and antibiotics in a sub-clinical necrotic enteritis model. Lanckriet A., L. Timbermont, M. De Gussem, M. Marien, D. Vancraeynest et. al., 2010, Avian Pathology, Vol. 39, pp. 63-68.

(12) The netB-positive *Clostridium perfringens* in the experimental induction of necrotic enteritis with or without predisposing factors. Yang Wen-Yuan, Yue-Jia Lee, Hsin-Yi Lu, Scott L Branton, Chung-Hsi Chou, Chinling Wang. 11, November de 2019, Poultry Science, Vol. 98, pp. 5297-5306.