



Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2022; 12:1-15. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2022.26>

Original Artigo. Recebido: 02/01/2021. Aceito: 02/09/2022. Publicado: 14/11/2022. Chave: e2021-3.

<https://www.youtube.com/watch?v=M6C5VaxAtDY>

Identificação e resistência antimicrobiana de bactérias da traquéia de galinhas poedeiras

Identification and antimicrobial resistance of isolated bacteria from trachea of laying hens



Cepeda-Quintero Higinio²  ID, Gaxiola-Camacho Soila¹  ID, Castro-Tamayo Carlos¹  ID,
Portillo-Loera Jesús¹  ID, Cháidez-Ibarra Miguel²  ID, Enríquez-Verdugo Idalia^{1*}  ID

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México. ²Estudiantes de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa; Culiacán, Sinaloa, México. *Autor responsável e para correspondência: Enríquez-Verdugo Idalia enver@uas.edu.mx. Boulevard San Ángel 3886, Fraccionamiento San Benito, 80260. 6677181650. Culiacán Rosales, Sinaloa, México. E-mail: higinio.cepeda@uas.edu.mx, soilagaxiola@uas.edu.mx, castrotamayo@uas.edu.mx, portillo6422@uas.edu.mx, miguelchaidez.fmvz@uas.edu.mx, enver@uas.edu.mx

RESUMO

Na produção avícola, os problemas respiratórios bacterianos são uma causa de perdas econômicas devido à diminuição da produção, ao aumento do custo do tratamento com antibióticos e à primeira causa de morte em galinhas poedeiras. A presença de patógenos implica uma distribuição nas unidades de produção e sua identificação por meio de testes bioquímicos permite a caracterização em nível de espécie e seu tratamento adequado. O objetivo do presente estudo foi identificar bactérias isoladas da traquéia de galinhas poedeiras e determinar seu perfil de resistência a antibióticos. Em uma granja de produção intensiva, foram coletadas amostras da traqueia de galinhas poedeiras; a detecção bacteriana foi realizada por isolamento, identificação colonial e microscópica, testes bioquímicos e testes de suscetibilidade antimicrobiana. Foram obtidos 32 isolados correspondentes a cinco tipos de colônias bacterianas com morfologia de cocos e bacilos Gram-positivos (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Corynebacterium spp*) e cocobacilos Gram-negativos (*Pasteurella multocida* e *Gallibacterium anatis*). *S. aureus*, *S. epidermidis* e *Corynebacterium spp*. apresentaram 100 % de resistência a glicopeptídeos, e *P. multocida* e *G. anatis*, a ampicilina (beta-lactânicos) e quinolonas (100 %). As bactérias isoladas apresentaram resistência e multirresistência a antibióticos, com implicações para a avicultura e a saúde pública.

Palavras-chave: resistência, suscetibilidade, antibiótico, bactérias, galinhas poedeiras.

ABSTRACT

Bacterial respiratory problems cause economic losses due to production decreases and the increasing cost of antibiotic treatment. In poultry production, they are the leading cause of death in laying hens. The presence of pathogens implies a distribution in the production units, and their identification by biochemical tests allows the characterization at the species level and its adequate treatment. The present study aimed to identify the bacteria isolated from the trachea of laying hens and determine their antibiotic resistance profile. In an intensive production farm, trachea samples were taken from hens; the bacterial detection was carried out with isolation, colonial and microscopic identification, and biochemical tests; the antimicrobial susceptibility test was also determined. Thirty-two isolates corresponding to five types of bacterial colonies with the morphology of cocci and Gram-positive bacilli (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Corynebacterium spp*) and Gram-negative coccobacilli (*Pasteurella multocida* and *Gallibacterium anatis*) were obtained. *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *Corynebacterium spp* showed resistance to glycopeptides (100 %), in addition to *P. multocida* and *G. anatis*, to ampicillin (beta-lactams) and quinolones



(100 %). The isolated bacteria showed antibiotic resistance and multi-resistance, with implications for poultry farming and public health.

Keywords: resistance, susceptibility, antibiotic, bacteria, laying hens.

INTRODUÇÃO

Na avicultura de produção, as doenças respiratórias são importantes devido ao impacto econômico decorrente da diminuição dos parâmetros produtivos e do aumento do custo para o uso de medicamentos, dependendo da espécie produtiva, da idade das aves, do custo do tratamento, do microrganismo patogênico, da mortalidade, da biossegurança, do estresse devido a fatores climáticos ou do manejo e da resposta imunológica (Espinosa *et al.*, 2011; Colas *et al.*, 2011^a; Colás *et al.*, 2011^b; Bagust, 2013; Ataei *et al.*, 2017). No sistema comercial de poedeiras em gaiolas, o tratamento consiste no uso de antimicrobianos; no entanto, a resistência a antibióticos se deve, em grande parte, ao seu uso inadequado (Vanegas-Múnica & Jiménez-Quinceno, 2020), o que representa um dos maiores riscos que enfrentamos como comunidade global (Davies & Davies, 2010; Nhung *et al.*, 2017; ONU, 2019). Braykov *et al.* (2016) evidenciaram a presença de *E. coli* em amostras de água, solo e galpões de aves, bem como em galinhas e frangos criados soltos em pequena escala no noroeste do Equador, com resistência antimicrobiana encontrada em todos os casos. O que é realmente alarmante em sistemas de produção intensiva é a presença de problemas respiratórios diagnosticados com etiologia única ou múltipla causada por vários organismos patogênicos (vírus, bactérias, fungos e agentes imunossupressores) (Glisson, 1998) e patógenos emergentes com multirresistência (Nworie *et al.*, 2016), no caso do *S. aureus*, comprometem o desempenho de um organismo, impedindo-o de mostrar seu potencial genético na produção, sendo esse complexo patológico conhecido como Síndrome Respiratória Aviária ou Complexo Respiratório Aviário (CRA) ou Doença Respiratória Crônica Complicada (DRCC) (Colas *et al.*, 2010; Ammar *et al.*, 2016; De la Cruz, 2016; Brochu *et al.*, 2019). O manejo adequado do lote ou o sistema de produção desempenha um papel importante na ocorrência de processos respiratórios, pois eles sempre serão maiores em lotes onde não há manejo adequado (Colás *et al.*, 2011^b). A identificação fenotípica bacteriana é baseada em características morfológicas, propriedades de desenvolvimento, bioquímicas e metabólicas, que são úteis na diferenciação de gêneros bacterianos, uma vez que seu desempenho e custo os tornam mais acessíveis, no entanto, às vezes são necessárias metodologias complementares para a identificação de espécies (Bou *et al.*, 2011; El-Adawy *et al.*, 2018). Devido à alta incidência de portadores de bactérias causadoras de doenças respiratórias em lotes de galinhas poedeiras e reprodutores de frangos de corte, a identificação dos agentes causadores é substancial, pois isso significa uma distribuição generalizada desses microrganismos entre as aves, o que causa uma diminuição na produção de ovos e representa a primeira causa de morte de galinhas poedeiras (Colás *et al.*, 2011^b; Nworie *et al.*, 2016; Elbestawy *et al.*, 2018). O manejo inadequado, por



exemplo, falha na ventilação, influencia o aparecimento de doenças do trato respiratório, onde várias bactérias, como *Mycoplasma* spp, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Bordetella avium*, *Avibacterium paragallinarum*, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Corynebacterium* spp, entre outras, causam PCR (Espinosa et al., 2011; De la Cruz, 2016; Singh et al., 2016; Nworie et al., 2016); além disso, a idade é incluída como um fator relacionado (Glendinning et al., 2017). Em termos de resistência a antibióticos em *P. multocida*, eritromicina, cloranfenicol e clindamicina são encontrados com suscetibilidade a derivados de penicilina e outros beta-lactâmicos (Espinosa et al., 2011; Atere et al., 2016). Foram relatados isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina e suscetibilidade reduzida à vancomicina (Jorgensen & Ferraro, 2000). Da mesma forma, perfis de resistência que incluem até 12 antibióticos foram relatados em espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativo, principalmente *S. epidermidis* (Osman et al., 2015). A resistência a macrolídeos, clindamicina, trimetoprim/sulfametoxazol, quinolonas e/ou rifampicina foi descrita para *Corynebacterium* spp (Yang et al., 2018). Por outro lado, foi relatada resistência a beta-lactâmicos (penicilina e ampicilina), tetraciclina, tilosina, tilosina, novobiocina, sulfonamida, lincomicina, enrofloxacina, florfenicol, cefotaxima, clindamicina, sulfatiazol, penicilina, norfloxacina e céfalotina em *Gallibacterium anatis* (anteriormente *Mannheimia haemolytica*) (Osuna et al., 2017; El-Adawy et al., 2018; Elbestawy et al., 2018; Nassik et al., 2019; Krishnegowda et al., 2020). O objetivo do presente estudo foi identificar bactérias isoladas da traqueia de galinhas poedeiras e determinar seu perfil de resistência a antibióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Bacteriologia e Micologia pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Autônoma de Sinaloa (FMVZ-UAS), no município de Culiacán, Sinaloa. As amostras traqueais foram coletadas em uma granja de sistema de produção intensiva no norte do estado de Sinaloa (município de Ahome), de galinhas poedeiras aparentemente saudáveis, dos galpões 1 e 2 com 59 semanas de idade e do galpão 3 com 111 semanas de idade, todos mantidos em gaiolas desde a criação até a produção, com aproximadamente 20.000 aves em cada um. Este trabalho foi um estudo de coorte transversal, observacional e descritivo, e o tamanho da amostra foi determinado por conveniência (5 cotonete por galpão). As galinhas foram tratadas com enrofloxacina (10 mg/kg de peso corporal ou 0,5 mL/L de água) entre 10 e 32 semanas antes da amostragem, devido à presença de estertores e queda na produção. Para a coleta de amostras, foi utilizada a técnica de contenção física manual da ave, o cotonete foi introduzido e foi realizado um arraste intratraqueal. As amostras foram transportadas em meio Stuart em um recipiente a 4 °C.



Isolamento bacteriano. O swab foi retirado do meio e foi feito um estriamento contínuo em placas com meio de ágar sangue e ágar chocolate. As placas foram então incubadas por 24 horas a 37 °C, em aerobiose e anaerobiose (incubadora anaeróbica Thermo Scientific com atmosfera de 5 % de CO₂). Depois que as placas foram semeadas, os cotonetes foram retirados e colocados em tubos com água peptonada para preservar as amostras a 4 °C.

Identificação bacteriana por métodos fenotípicos. Para a identificação das características da colônia em cultura, foram observados o tamanho, a forma, a cor, a textura e as bordas das colônias, bem como a presença de hemólise. Para a identificação microscópica, foi usada a coloração de Gram e foram observadas formas e agrupamentos (Kaiser, 2017).

Identificação por testes bioquímicos. Os testes bioquímicos usados para a identificação bacteriana foram: ágar ferro e açúcar triplo (TSI), ágar ferro e lisina (LIA), ágar citrato de Simmons e testes de motilidade de sulfeto de indol (SIM), oxidase, catalase, coagulase e fermentação de manitol. No TSI, foi avaliada a capacidade de fermentar carboidratos como glicose, sacarose e lactose; no LIA, foi avaliada a presença da enzima descarboxilase (descarboxilação da lisina); no citrato de Simmons, foi testado o uso de citrato de sódio como única fonte de carbono; no SIM, foram testados a motilidade, o sulfeto de hidrogênio (H₂S) e a produção de indol; o teste da oxidase determinou a presença de enzimas do sistema citocromo oxidase; o teste da catalase mostrou a presença dessa enzima, que decompõe o peróxido de hidrogênio; o teste da coagulase mostrou a presença dessa enzima coagulando o plasma e transformando o fibrinogênio em fibrina; por fim, alguns microrganismos fermentam o manitol (Kaiser, 2017). A diferenciação bioquímica de cada bactéria obtida foi realizada com base em Hoover *et al.*, 1983; Funke *et al.*, 1997; Weinstein *et al.*, 1997; Arce *et al.*, 2011; Castillo *et al.*, 2014; Sanz-Rodríguez *et al.*, 2014 e Zendejas-Manzo *et al.*, 2014.

Suscetibilidade a antibióticos. Com base nas características fenotípicas e metabólicas, um isolado de cada grupo de bactérias foi selecionado aleatoriamente e os testes de inibição *in vitro* foram realizados em triplicata usando o método de difusão em disco Kirby-Bauer. As bactérias foram cultivadas em caldo de tripticaseína-soja e lidas em um espectrofotômetro Bandwidth UV-5200 a uma densidade óptica de 600 nm para estimar o crescimento bacteriano para um padrão de 0,5 McFarland. Em seguida, as bactérias foram semeadas em placas de ágar Müller-Hinton por meio de estrias cruzadas contínuas com o auxílio de um cotonete estéril até que o inóculo fosse impregnado no meio. Posteriormente, foram colocados multidiscos para bactérias Gram-negativas (PT-35Nmultibac I.D.) e Gram-positivas (PT-34Nmultibac I.D.), que continham os antibióticos, com ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), cefotaxima (30 µg), ciprofloxacina (5 µg),



clindamicina (30 µg), dicloxacilina (1 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), penicilina (10 U), trimetoprim-sulfametoazol (25 µg), tetraciclina (30 µg), vancomicina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), carbenicilina (100 µg), netilmicina (30 µg), nitrofurantoína (300 µg), norfloxacina (100 µg) e amicacina (30 µg). Os quimioterápicos clindamicina, dicloxacilina, eritromicina, penicilina, tetraciclina e vancomicina foram testados apenas em bactérias Gram-positivas, enquanto cloranfenicol, carbenicilina, netilmicina, nitrofurantoína, norfloxacina e amicacina foram testados apenas em bactérias Gram-negativas. Por fim, as placas foram incubadas a 37 ± 1 °C por 18-24 h. Após o período de incubação, o halo de inibição foi medido com uma régua (mm) para determinar a suscetibilidade ou resistência de acordo com as recomendações do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) e do fabricante *Diagnostic Research Diagnostic Reagents Laboratory* (CLSI, 2015; CLSI, 2017; CLSI, 2018; ID, 2020; CLSI, 2021; EUCAST, 2022). Os isolados com suscetibilidade intermediária foram considerados resistentes, pois essas populações bacterianas têm subpopulações de bactérias resistentes que transmitirão esse fenótipo a bactérias suscetíveis (Flores-Hernández et al., 2020).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 15 amostras obtidas da traqueia de galinhas, pertencentes a três galpões de postura (GC1-3), foram obtidos 32 isolados, que foram agrupados em 5 tipos de colônias bacterianas e identificados por métodos fenotípicos e bioquímicos, conforme descrito na Tabela 1, como *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium* spp, *Staphylococcus aureus*, *Gallibacterium anatis* e *Staphylococcus epidermidis* (Hoover et al. 1983; Funke et al., 1997; Weinstein et al., 1997; Arce et al., 2011; Castillo et al., 2014; Sanz-Rodríguez et al., 2014; Zendejas-Manzo et al., 2014). Na GC1, todos os 5 tipos de colônias foram detectados, com um total de 14 isolados obtidos. Em contraste, na GC2, foram encontrados 3/5 tipos de colônias, com 8 isolados. Por fim, na GC3, foram obtidos 4/5, com um total de 10 isolados (Tabela 1). *S. aureus*, *P. multocida*, *G. antis*, *S. epidermidis* e *Corynebacterium* spp foram observados em 60, 53, 47, 40 e 13 % das galinhas, respectivamente.

Os achados deste estudo coincidem com os relatados por Osuna et al. (2017), que isolaram *G. anatis* e *P. multocida* de 600 galinhas poedeiras de diferentes granjas em Sonora; no entanto, as amostras foram obtidas de diversos tecidos, como cornetas, traqueia, pulmões, fenda palatina, fígado, baço, rins, folículos e peritônio de poedeiras selecionadas pela presença de sinais clínicos respiratórios; além disso, eles também relataram a presença de *E. coli*, *Streptococcus* sp, *Pseudomonas* sp e *Salmonella* sp, enquanto neste estudo essas bactérias não foram isoladas. Da mesma forma, difere nos microrganismos encontrados e na seleção de amostras do trabalho realizado por Mendoza et al. (2014), pois 96 isolados de *G. anatis* foram identificados em aves comerciais (38 frangos de corte, 37 poedeiras, 19 reprodutoras e 2 galos de briga) com



sinais respiratórios e a coloração de Gram mostrou a morfologia de cocobacilos Gram-negativos; no entanto, no presente estudo, foram observadas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e as amostras foram coletadas de aves sem sinais clínicos, aparentemente saudáveis com tratamento prévio para problemas de saúde.

Tabela 1. Frequência de bactérias isoladas por galpão de postura com base em testes fenotípicos e bioquímicos

Bactérias	GC 1	GC 2	GC 3	Total de isolados	Testes fenotípicos	Testes bioquímicos
<i>Pasteurella multocida</i>	2	4	2	8	Cocobacilos Gram-negativos, não hemolíticos	Indole, oxidase, catalase, fermentação de glicose, lactose e sacarose positivas. Motilidade, gás, H ₂ S, descarboxilação de lisina, gelatinase, permease de citrato negativo.
<i>Corynebacterium spp</i>	2	-	-	2	Bacilo Gram-positivo, não hemolítico	Oxidase, catalase, fermentação de glicose, lactose e sacarose positivas. Indole, motilidade, gás, H ₂ S, descarboxilação de lisina, gelatinase, permease de citrato negativo.
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	3	9	Cocos Gram-positivos, não hemolíticos	Catalase, coagulase, fermentação de manitol, fermentação de glicose, lactose e sacarose positivas. Oxidase, indol, motilidade, gás, H ₂ S, descarboxilação de lisina, gelatinase, permease de citratos negativos.
<i>Gallibacterium anatis</i>	4	-	3	7	Cocos Gram-negativos, hemolíticos	Catalase, fermentação de glicose, lactose e sacarose positivas. Oxidase, indol, motilidade, gás, H ₂ S, descarboxilação de lisina, gelatinase, permease de citratos negativos.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	3	2	6	Cocos gram-positivos, não hemolíticos	Catalase, fermentação de glicose, lactose e sacarose positivas. Oxidase, indol, coagulase, fermentação de manitol, motilidade, gás, H ₂ S, descarboxilação de lisina, gelatinase, permease de citratos negativos.
Total	14	8	10	32		

GC= Galpão de colocação de ovos. H₂S= Ácido hidrosulfúrico

Com relação à frequência de isolados bacterianos (32), *S. aureus* foi o agente bacteriano mais frequentemente isolado (28 %), seguido por *P. multocida*, *G. anatis* e *S. epidermidis*, com 25, 22 e 19 % dos isolados, respectivamente, enquanto *Corynebacterium spp* foi o menos frequente (6 %). Esses resultados diferem dos relatados por [Espinosa et al. \(2011\)](#), em que o microrganismo mais frequentemente isolado foi *P. multocida* (20 %), no entanto, a frequência dessa bactéria é semelhante em termos de porcentagem de isolamento em um total de 80 amostras de exsudatos nasais e traqueais de galinhas poedeiras, nesse estudo também foram isoladas *E. coli* (18 %) e *O. rhinotracheale* (5 %), que não foram isoladas neste estudo. [Atere et al. \(2016\)](#), em um estudo realizado em frangos de 23 granjas, isolaram *P. multocida* com uma frequência de 12 % (12/97), o que difere do presente estudo com uma frequência de 53 % (8/15), além disso, dos 12



isolados, 3 foram detectados no fígado. Além disso, os resultados do presente estudo diferem dos apresentados por [Vargas et al. \(2010\)](#), que mostraram *S. aureus* como a quinta bactéria mais isolada de 45 aves selvagens. No entanto, [Castillo et al. \(2014\)](#) identificaram *P. multocida* e *G. anatis* como microrganismos presentes na PCR, o que está de acordo com os resultados obtidos. [Nassik et al. \(2019\)](#) determinaram que a *G. anatis* está envolvida na diminuição da produção de ovos com uma frequência de 46 % em amostras de ovário, traqueia e cloaca de 52 galinhas, o que é consistente com esses resultados (47 %); no entanto, os isolados correspondem apenas à traqueia. O estudo de [Nworie et al. \(2016\)](#) apresenta discrepâncias nos isolados e no tipo de amostras, onde eles relatam uma frequência de 14 % para *S. aureus* em amostras de narinas e cloaca, enquanto no presente estudo uma frequência de 60 % para essa bactéria foi encontrada em exsudatos traqueais, além disso, outra espécie de estafilococo (*S. epidermidis*) foi encontrada em 40 % das aves. Recentemente, [Benrabia et al. \(2020\)](#) encontraram uma prevalência de 48,8 % para *S. aureus* em galinhas poedeiras de 840 granjas na Argélia, o que é semelhante a esses resultados; além disso, eles relataram que 34 % desses isolados correspondiam a *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), o que representa um risco considerável à saúde pública.

A resistência a beta-lactâmicos (dicloxacilina, *Staphylococcus* spp. R: ≤ 12 mm, S: ≥ 13 mm), glicopeptídeos (vancomicina, *Staphylococcus* spp. R: ≤ 16 mm; S: ≥ 17 mm), macrolídeos (eritromicina, *Staphylococcus aureus* R: ≤ 21 mm; S: ≥ 22 mm; *S. epidermidis* R: ≤ 20 mm; S: ≥ 21 mm) e tetraciclínas (tetraciclina, *Staphylococcus aureus* R: ≤ 23 mm; S: ≥ 24 mm; *Staphylococcus* spp. R: ≤ 18 mm, S: ≥ 19 mm), com base nos critérios estabelecidos pelo [CLSI, 2017](#); [ID, 2020](#); [CLSI, 2021](#) e [EUCAST, 2022](#) (Tabela 2). [Vargas et al. \(2010\)](#), em seu estudo, detectaram resistência de *S. aureus* a macrolídeos, o que coincide com este estudo em *S. aureus* e *S. epidermidis*, que mostraram resistência à eritromicina; no entanto, eles diferem em termos de resistência à vancomicina e no tipo de amostras, cloacae e glote de 30 aves e cotonetes nasais e retais de 29 mamíferos. Da mesma forma, no estudo conduzido por [Nworie et al. \(2016\)](#) em amostras nasais e cloacais de aves, eles encontraram resistência de *S. aureus* à eritromicina, gentamicina, tetraciclina e trimetoprim/sulfametoazol, o que é consistente com os achados obtidos. Da mesma forma, [Benrabia et al. \(2020\)](#) concordam em relatar a resistência de *S. aureus* à tetraciclina e à eritromicina; no entanto, a maioria dos isolados dessa bactéria, em amostras de cotonete nasal de galinhas reprodutoras, poedeiras, frangos de corte e perus, foi resistente à ciprofloxacina e sensível à vancomicina e à gentamicina, o que contrasta com os presentes resultados. Da mesma forma, [Osman et al. \(2015\)](#) concordam com a resistência à trimetoprima/sulfametoazol, mas diferem na resistência à penicilina e à clindamicina em isolados estafilocócicos, onde *S. hyicus*, *S. lugdunensis*, *S. aureus* e *S. epidermidis* se destacam; isso pode ser devido à origem de suas amostras (frango e carne bovina vendida em supermercados no Cairo),



destacando assim a importância da fonte de infecção para os seres humanos. Além disso, em *Corynebacterium* spp. foi encontrada resistência aos grupos aminoglicosídeos (gentamicina, R: ≤ 14 mm, S: ≥ 15 mm), beta-lactâmicos (ampicilina, R: ≤ 21 mm; S: ≥ 29 mm; cefalotina, R: ≤ 17 mm, S: ≥ 18 mm; cefotaxima, R: ≤ 22 mm, S: ≥ 23 mm), glicopeptídeos (vancomicina, R: ≤ 16 mm; S: ≤ 16 mm), glicopeptídeos (vancomicina, R: ≤ 16 mm; S: ≤ 16 mm) e glicopeptídeos (vancomicina, R: ≤ 16 mm; S: ≤ 16 mm; S: ≤ 22 mm; S: ≥ 23 mm): ≤ 16 mm; S: ≥ 17 mm), quinolonas (ciprofloxacina, R: ≤ 20 mm, S: ≥ 21 mm) e sulfonamidas (trimetoprima/sulfametoxazol, R: ≤ 15 mm, S: ≥ 16 mm), com base nos critérios estabelecidos por ID, 2020 e EUCAST, 2022 (Tabela 2).

Tabela 2. Suscetibilidade a antibióticos em bactérias Gram-positivas

Antibiótico	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Corynebacterium</i> spp	Resistência (%)	Suscetibilidade (%)	Literatura citada
Aminoglicosídeo						
Gentamicina	R	S	R	66.66	33.33	CLSI, 2017; CLSI, 2021; EUCAST, 2022
Beta-lactâmicos						
Ampicilina	S	S	R	33.33	66.66	CLSI, 2017; ID, 2020
Cefalotina	R	S	R	66.66	33.33	CLSI, 2017; ID, 2020
Cefotaxima	S	S	R	33.33	66.66	ID, 2020
Dicloxacilina	R	R	S	66.66	33.33	ID, 2020
Penicilina	S	S	S	0	100	CLSI, 2017; CLSI, 2021; EUCAST, 2022
Glicopeptídeos						
Vancomicina	R	R	R	100	0	CLSI, 2017; EUCAST, 2022
Lincosamidas						
Clindamicina	S	R	S	33.33	66.66	CLSI, 2017; CLSI, 2021; EUCAST, 2022
Macrolídeos						
Eritromicina	R	R	S	66.66	33.33	CLSI, 2017; CLSI, 2021; EUCAST, 2022
Quinolonas						
Ciprofloxacina	S	S	R	33.33	66.66	CLSI, 2021; EUCAST, 2022
Sulfonamidas						
Trimetoprim/Sulfametoxazol	R	S	R	66.66	33.33	CLSI, 2017; CLSI, 2021; EUCAST, 2022
Tetraciclinas						
Tetraciclina	R	R	S	66.66	33.33	CLSI, 2017; CLSI, 2021; EUCAST, 2022

R= resistente e S= sensível. ID= Investigação diagnóstica. EUCAST= Comitê Europeu de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiana. CLSI= Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais



Neste estudo, com base nos critérios estabelecidos por [ID, 2020](#) e [EUCAST, 2022](#), os isolados obtidos de *P. multocida* apresentaram resistência a aminoglicosídeos (amicacina, R: ≤ 16 mm, S: ≥ 17 mm; netilmicina, R: ≤ 14 mm, S: ≥ 15 mm), beta-lactâmicos (ampicilina, R: ≤ 16 mm; S: ≥ 17 mm; carbenicilina, R: ≤ 22 mm, S: ≥ 23 mm), cloranfenicóis (cloranfenicol, R: ≤ 17 mm, S: ≥ 18 mm) e quinolonas (ciprofloxacina, R: ≤ 26 mm; S: ≥ 27 mm; norfloxacina R: ≤ 16 mm, S: ≥ 17 mm) (Tabela 3), que diferem do relatado por [Zahoor & Siddique \(2006\)](#) em amostras de fígado de aves de várias granjas, onde isolados de *P. multocida* apresentaram sensibilidade ao cloranfenicol e à ciprofloxacina e resistência à trimetoprima/sulfadiazina.

Além disso, esses resultados diferem em termos de resistência relatada por [Atere et al. \(2016\)](#) em esfregaços de traqueia e fígado de galinha, onde encontraram resistência à ciprofloxacina, ampicilina, nitrofurantoína e gentamicina em *P. multocida*, enquanto no presente estudo foi observada resistência à ciprofloxacina e à ampicilina, em contraste com a gentamicina e a nitrofurantoína, que tiveram boa eficácia *in vitro*.

Neste estudo, a *G. anatis* apresentou resistência a beta-lactâmicos (ampicilina, FR: ≤ 26 mm; S: ≥ 27 mm), quinolonas (ciprofloxacina, R: ≤ 20 mm, S: ≥ 21 mm; norfloxacina, R: ≤ 16 mm, S: ≥ 17 mm) e sulfonamidas (trimetoprima/sulfametoxazol, R: ≤ 23 mm; S: ≥ 24 mm) com base nos critérios estabelecidos pelo [CLSI, 2015](#) e [ID, 2020](#) (Tabela 3), o que é consistente com a resistência relatada em diferentes tipos de amostras (cornetas, traqueia, pulmões, fenda palatina, fígado, baço, rins, folículos, peritônio, ovário, proventrículo, laringe, coração, saco aéreo, cérebro, olho e oviduto) de galinhas poedeiras, frangos de corte e reprodutores. Além disso, demonstrou sensibilidade à família do fenicol e à gentamicina ([Osuna et al., 2017](#); [El-Adawy et al., 2018](#); [Elbestawy et al., 2018](#); [Nassik et al., 2019](#)).

Da mesma forma, [Mendoza et al. \(2014\)](#) relataram a resistência de *G. anatis* à ciprofloxacina em bactérias isoladas de amostras clínicas de frangos de corte, poedeiras, reprodutores e galos de briga, o que coincide com os resultados obtidos.

CONCLUSÃO

As bactérias patogênicas isoladas e identificadas bioquimicamente da traqueia de galinhas poedeiras no norte de Sinaloa são representadas por quatro gêneros bacterianos, sendo que as bactérias Gram-positivas foram *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Corynebacterium* spp e as bactérias Gram-negativas foram *Pasteurella multocida* e *Gallibacterium anatis*. A microbiota Gram-positiva apresentou alta resistência antimicrobiana, no gênero *Staphylococcus*, principalmente a beta-lactâmicos, glicopeptídeos, macrolídeos e tetraciclinas e o gênero *Corynebacterium* a aminoglicosídeos, beta-lactâmicos, glicopeptídeos, quinolonas e sulfonamidas, da mesma forma, esse grupo de microbiota Gram-positiva convergiu em 100 % para glicopeptídeos; da mesma forma, as Gram-negativas *P. multocida* e *G. anatis* apresentaram 100 % de resistência à ampicilina (beta-lactâmicos) e ao grupo das quinolonas. A presença dessas bactérias patogênicas em diferentes aviários em sistemas de produção intensiva pode ser devida à exposição e à dispersão, o que implica na



resistência e na multirresistência encontradas nesse tipo de doença na produção avícola e sanitária, por isso é necessário explorar alternativas ao uso de antibióticos.

Tabela 3. Suscetibilidade a antibióticos em coccobacilos Gram-negativos

Antibiótico	<i>P. multocida</i>	<i>G. anatis</i>	Resistência (%)	Sensibilidade	Literatura citada
Aminoglicosídeos					
Amikacina	R	S	50	50	ID, 2020
Gentamicina	S	S	0	100	ID, 2020
Netilmicina	R	S	50	50	ID, 2020
Beta-lactânicos					
Ampicilina	R	R	100	0	CLSI, 2015; EUCAST, 2022
Carbenicilina	R	S	50	50	ID, 2020
Cefalotina	S	S	0	100	ID, 2020
Cefotaxima	S	S	0	100	ID, 2020; EUCAST, 2022
Cloranfenicóis					
Cloramfenicol	R	S	50	50	ID, 2020
Nitrofuranos					
Nitrofurantoína	S	S	0	100	ID, 2020
Quinolonas					
Ciprofloxacina	R	R	100	0	ID, 2020; EUCAST, 2022
Norfloxacina	R	R	100	0	ID, 2020
Sulfonamidas					
Trimetoprim/ Sulfametoazol	S	R	50	50	CLSI, 2015; ID, 2020; EUCAST, 2022

R= resistente e S= sensível. ID= Investigação diagnóstica. EUCAST= Comitê Europeu de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiana. CLSI= Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio do laboratório de Bacteriologia e Micologia, bem como da Unidade de Avicultura Experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Autônoma de Sinaloa. Ao Dr. Carlos Vladimir López Aispuro e ao MVZ Miguel Demetrio Cervantes Jacobo pelo apoio neste trabalho. Agradecemos também ao CONACyT pelas bolsas concedidas aos alunos (CVU 399742 e 949449).

LITERATURA CITADA

AMMAR AM, El-Aziz NKA, El Wanis SA, Bakry NR. 2016. Molecular versus conventional culture for detection of respiratory bacterial pathogens in poultry. *Cellular and Molecular Biology*. 62(2): 52-56. ISSN: 1165-158X.
<http://www.cellmolbiol.org/index.php/CMB/article/view/799/409>

ARCE MA, Miranda DD, Mora A, Camacho MC, Artiles E, Tandrón E. 2011. Pasteurellosis aviar. Comportamiento clínico, anatomo patológico y microbiológico. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 12(8). ISSN 1695-7504.



<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63621920004>

ATAEI S, Bojesen AM, Amininajafi F, Ranjbar MM, Banani M, Afkhamnia M, Abtin A, Goodarzi H. 2017. First report of *Gallibacterium* isolation from layer chickens in Iran. *Archives of Razi Institute*. 72(2):123-128. <https://doi.org/10.22092/ari.2017.109842>

ATERE AV, Bamikole AM, Oluyege AO, Ajurojo OA, Alo OS. 2016. Prevalence and antibiotic resistance of *Pasteurella multocida* isolated from chicken in Ado-Ekiti metrópolis. *Scientific World*. 4(2):40-42. <https://doi.org/10.14419/ijsw.v4i2.6273>

BAGUST TJ. 2013. Salud de las aves de corral y control de enfermedades en los países en desarrollo. En: Revisión del desarrollo avícola. Editorial Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Pp. 102. ISBN: 978-92-5-308067-0 (PDF). <http://www.fao.org/3/a-i3531s.pdf>

BENRABIA I, Hamdi TM, Shehata AA, Neubauer H, Wareth G. 2020. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Poultry Species in Algeria: Long-Term Study on Prevalence and Antimicrobial Resistance. *Veterinary Science*. 7(2):1-11.
<https://doi.org/10.3390/vetsci7020054>

BRAYKOV NP, Eisenberg JNS, Grossman M, Zhang L, Vasco K, Cevallos W, Muñoz D, Acevedo A, Moser KA, Marrs CF, Foxman B, Trostle J, Trueba G, Levy K. 2016. Antibiotic resistance in animal and environmental samples associated with small-scale poultry farming in northwestern Ecuador. *mSphere* 1(1):e00021-15.
<https://doi.org/10.1128/mSphere.00021-15>

BOU G, Fernández-Olmos A, García C, Sáez-Nieto JA, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 29(8):601–608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>

BROCHU NM, Guerin MT, Varga C, Lillie BN, Brash ML, Susta L. 2019. A two-year prospective study of small poultry flocks in Ontario, Canada, part 1: prevalence of viral and bacterial pathogens. *Veterinary Diagnostic Investigation*. 31(3):327–335.
<https://doi.org/10.1177/1040638719843577>

CASTILLO G, Koga Y, Alvarado A, Tinoco R, Fernández D. 2014. Aislamiento e Identificación Bioquímica de Cepas de *Pasteurella multocida* y *Gallibacterium anatis* en Aves de Producción con Signos Respiratorios. *Investigaciones Veterinarias del Perú*. 25(4): 516-522. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v25i4.10812>

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2015. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. 3rd ed. CLSI guideline M45. Pp. 120. (ISBN 1-56238-917-3 [Print]; ISBN 1-56238-918-1



[Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA.

[https://goums.ac.ir/files/deputy_treat/md_labs_ef39a/files/CLSI-M45ed3e-2018\(1\).pdf](https://goums.ac.ir/files/deputy_treat/md_labs_ef39a/files/CLSI-M45ed3e-2018(1).pdf)

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2017. Methods for antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria isolated from animals, 1st ed. CLSI supplement VET06. Pp. 114. (ISBN 1-56238-810-X [Print]; ISBN 1-56238-811-8 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA.

https://clsi.org/media/1524/vet06ed1_sample.pdf

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2018. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 11th Edition. CLSI standard M07. Pp. 91. (ISBN 1-56238-836-3 [Print]; ISBN 1-56238-837-1 [Electronic]). https://community.clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2021. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 31st ed. CLSI supplement M100. Pp. 352. ISBN 978-1-68440-104-8 [Print]; ISBN 978-1-68440-105-5 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA. https://clsi.org/media/3481/m100ed30_sample.pdf

COLAS M, Merino M, Santana Y, Miranda Y, Bacallao N, Lobo E, Vega A. 2010. Serological study of agents associated to chronic respiratory syndrome in laying hens. *Biotecnología Aplicada*. 27(3):232-236. ISSN 1027-2852.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1027-28522010000300006&script=sci_abstract&tlang=pt

COLAS CMC, Lamazares MC, Pérez GL, Sosa TIM, Abeledo MA, Merino LA, Fuente D, Gómez ÁE. 2011^a. Evaluación epidemiológica de procesos respiratorios bacterianos en reemplazos de ponedoras. *Salud Animal*. 33(3):178-183. ISSN: 0253-570X.

<http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/266>

COLÁS CMC, Lamazares MC, Pérez GL, Sosa TIM, Abeledo MA, Merino LA, Fuente D, Gómez ÁE. 2011^b. Evaluación epidemiológica de procesos respiratorios bacterianos en gallinas ponedoras. *Salud Animal*. 33(2):69-75. ISSN: 0253-570X.

<http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/247>

DAVIES J, Davies D. 2010. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*. 74(3):417-433.

<https://journals.asm.org/doi/10.1128/MMBR.00016-10>

DE LA CRUZ LM. 2016. Aislamiento y caracterización de *Mycoplasma synoviae* y otras bacterias asociadas al complejo respiratorio aviar en pollos de engorde de la provincia Manabí, Ecuador. *Salud Animal*. 38(3):199-199. ISSN: 2224-4700.



<http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/861>

EL-ADAWY H, Bocklisch H, Neubauer H, Hafez HM, Hotzel H. 2018. Identification, differentiation and antibiotic susceptibility of *Gallibacterium* isolates from diseased poultry. *Irish Veterinary*. 71(1):5. <http://dx.doi.org/10.1186/s13620-018-0116-2>

ELBESTAWY AR, Ellakany HF, El-Hamid HSA, Bekheet AA, Mataried NE, Nasr SM, Amarin NM. 2018. Isolation, characterization, and antibiotic sensitivity assessment of *Gallibacterium anatis* biovar *haemolytica*, from diseased Egyptian chicken flocks during the years 2013 and 2015. *Poultry Science*. 97(5):1519–1525.

<http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey007>

ESPINOSA I, Colas M, Vichi J, Báez M, Martínez S. 2011. Isolation and identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* from laying hens in farms of la Habana province. *Salud Animal*. 33(1):38-43. ISSN: 2224-4700.

<https://www.researchgate.net/publication/228483199>

EUCAST. 2022. Clinical Breakpoints Table v. 12.0.

http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

FLORES-HERNÁNDEZ W, Luna-Castro A, Peña-Avelino L, Barrios-García H, Alva-Pérez J. 2020. Microbiota vaginal y susceptibilidad quimioterapéutica en cabras criollas. *Abanico Veterinario*. 10:1-14. ISSN 2448-6132. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.37>

FUNKE G, Von Graevenitz A, Clarridge JE, Bernard KA. 1997. Clinical Microbiology of Coryneform Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*. 10(1):125-159.

<https://doi.org/10.1128/CMR.10.1.125>

GLENDINNING L, McLachlan G, Vervelde L. 2017. Age-related differences in the respiratory microbiota of chickens. *PLoS one*. 12(11):e0188455.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188455>

GLISSON JR. 1998. Bacterial Respiratory Diseases of Poultry. *Poultry Science* 77(8):1139–1142. <https://doi.org/10.1093/ps/77.8.1139>

HOOVER DG, Tatini SR, Maltais JB. 1983. Characterization of Staphylococci. *Applied and Environmental Microbiology*. 46(3):649-660.

<https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.46.3.649-660.1983>

ID (Investigación Diagnóstica). 2020. Laboratorio de reactivos para diagnóstico. Abel Gutiérrez. <http://quimex.com.mx/wp-content/uploads/2021/01/Multibac-Multidiscos-Antibiogramas.pdf>



JORGENSEN JH, Ferraro MJ. 2000. Antimicrobial Susceptibility Testing: Special Needs for Fastidious Organisms and Difficult-to-Detect Resistance Mechanisms. *Clinical Infectious Diseases*. 30(5):799–808. ISSN 1058-4838. <https://doi.org/10.1086/313788>

KAISER GE. Microbiology Laboratory Manual. 2017. The Community College of Baltimore County, Catonsville Campus. UK.
<https://cwoer.ccbccmd.edu/science/microbiology/Lab%20Manual/lab8/lab8.html>

KRISHNEGOWDA DN, Dhama K, Mariappana AK, Munuswamy P, Yatoob MI, Tiwaric R, Karthikd K, Bhatte P, Reddy MR. 2020. Etiology, epidemiology, pathology, and advances in diagnosis, vaccine development, and treatment of *Gallibacterium anatis* infection in poultry: a review. *Veterinary Quarterly*. 40(1):16–34.
<https://doi.org/10.1080/01652176.2020.1712495>

MENDOZA K, Zavaleta A, Koga Y, Rodríguez J, Alvarado A, Tinoco R. 2014. Variabilidad genética de cepas de *Gallibacterium anatis* aisladas de aves comerciales del Perú con infecciones respiratorias. *Investigación Veterinaria Perú*. 25(2):233-244.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v25i2.8496>

SANZ-RODRÍGUEZ N, Almagro-Moltó M, Vozmediano-Serrano MT, Gómez-Garcés JL. 2014. Primer aislamiento de *Corynebacterium mucifaciens* en una úlcera corneal. Cartas científicas / Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 32(8):542–547.
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.11.012>

NASSIK S, Tallouzt S, Karbach N, Touzani C, Bidoudan Y, Aamarine N, Hess C. 2019. First Report of Isolation of *Gallibacterium anatis* from Layer Chickens in Morocco with Decrease in Laying Performance. *Avian diseases*. 63(4):727–730.
<https://doi.org/10.1637/aviandiseases-D-19-00119>

NHUNG NT, Chansiripornchai N, Carrique-Mas JJ. 2017. Antimicrobial Resistance in Bacterial Poultry Pathogens: A review. *Frontiers in Veterinary Science*. 4:126.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00126>

NWORIE A, Elom MO, Gideon IA, Azi SO, Okekpa SI, Ukwah BN, Usanga VU, Okon UN, Chinwe E, Olayinka BO, Onaolapo JA, Ehinmidu JO. 2016. Multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* from poultry farms in Ebonyi State, Nigeria. *Micro Biology, Genetics and Monocular Biology*. 2(3):1-11.
<https://www.researchgate.net/publication/329589615>

ONU (Organización de las Naciones Unidas). 2019. Se avecina una crisis “desastrosa” de enfermedades resistentes a los medicamentos. España. 7 p.
<https://news.un.org/es/story/2019/04/1455011>



OSMAN KM, Amer AM, Badr JM, Saad ASA. 2015. Prevalence and Antimicrobial Resistance Profile of *Staphylococcus* Species in Chicken and Beef Raw Meat in Egypt. *Foodborne pathogens and disease*. 12(5):406-413.
<http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2014.1882>

OSUNA CRF, Molina BRM, Munguía XJA, Hernández CJF, López LJB, Acuña YM, Fernández MVA, Robles MJ, Icedo EJGA. 2017. Resistencia antimicrobiana de *Gallibacterium anatis* aisladas de gallinas de postura comercial en Sonora, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 8(3):305-312.

<http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i3.4506>

SINGH SV, Singh BR, Sinha DK, Kumar ORV, Vadhana AP, Bhardwaj M, Dubey S. 2016. *Gallibacterium anatis*: An Emerging Pathogen of Poultry Birds and Domiciled Birds. *Veterinary Science and Technology*. 7(3):324. ISSN: 2157-7579.
<http://dx.doi.org/10.4172/2157-7579.1000324>

VANEGAS-MÚNERA JM, Jiménez-Quinceno JN. 2020. Resistencia antimicrobiana en el siglo XXI: ¿hacia una era postantibiotica? *Facultad Nacional de Salud Pública*. 38(1):e337759. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/fnsp/article/view/337759>

VARGAS J, Máttar S, Monsalve S. 2010. Bacterias patógenas con alta resistencia a antibióticos: estudio sobre reservorios bacterianos en animales cautivos en el zoológico de Barranquilla. *Infectio*. 14(1): 6-19. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(10\)70088-6](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70088-6)

WEINSTEIN MP, Towns ML, Quartey SM, Mirret S, Reimer LG, Parmigiani G, Reller LB. 1997. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: A prospective comprehensive evaluation of microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clinical Infectious Diseases*. 24:584-602.

<https://academic.oup.com/cid/article/24/4/584/439162>

YANG K, Kruse RL, Lin WV, Musher DM. 2018. Corynebacteria as a cause of pulmonary infection: a case series and literature review. *Pneumonia*. 10(1):1-8.
<https://doi.org/10.1186/s41479-018-0054-5>

ZAHOOR MA, Siddique M. 2006. Characteristics of *Pasteurella multocida* recovered from avian sources. *Pakistan Veterinary*. 26(1):41-43.
<https://www.researchgate.net/publication/242775243>

ZENDEJAS-MANZO GS, Avalos-Flores H, Soto-Padilla MY. 2014. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Biomédica*. 25(3):129-143.
<https://www.revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/42>

Errata Erratum

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanco-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>