

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE/ UNB
CURSO DE FARMÁCIA**

FERNANDO DE SOUSA LIMA

Resistência antimicrobiana de bactérias *Escherichia coli* isoladas de carnes de frango comercializadas no Distrito Federal

BRASÍLIA, DF

2021

FERNANDO DE SOUSA LIMA

Resistência antimicrobiana de bactérias *Escherichia coli* isoladas de carnes de frango comercializadas no Distrito Federal

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

Co-orientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA, DF

2021

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S725r Sousa , Fernando
Resistência antimicrobiana de bactérias *Escherichia coli*
isoladas de carnes de frango comercializadas no Distrito
Federal / Fernando Sousa ; orientador Daniela Castilho;
co-orientador Izabel Cristina Rodrigues. -- Brasília, 2021.
28 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2021.

1. A infecção por *Escherichia coli* é uma das principais
doenças da avicultura industrial moderna e causa grandes
prejuízos econômicos no mundo inteiro. 2. colibacilose. 3.
coliformes termo tolerantes. 4. susceptibilidade a
antimicrobianos. I. Castilho, Daniela, orient. II.
Rodrigues, Izabel Cristina, co-orient. III. Título.

FERNANDO DE SOUSA LIMA

Resistência antimicrobiana de bactérias *Escherichia coli* isoladas de carnes de frango comercializadas no Distrito Federal

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi
(FCE/ Universidade de Brasília)

Farmacêutica Erika da Silva Monteiro
(FCE/ Universidade de Brasília)

Farmacêutica Letícia Fernandes Silva Rodrigues
(FCE/ Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, DF

2021

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que contribuíram direta ou indiretamente em minha
formação acadêmica

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram no decorrer desta jornada, em especial a Deus, a quem devo minha vida.

A minha família que sempre me apoiou nos estudos e nas escolhas tomadas.

A minha esposa por sempre me incentivar e compreender nos momentos difíceis.

A orientadora Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi que teve papel fundamental na elaboração deste trabalho.

Aos meus colegas pelo companheirismo e disponibilidade para me auxiliar em vários momentos.

A Universidade quero deixar uma palavra de gratidão por ter me recebido de braços abertos e com todas as condições que me proporcionaram dias de aprendizagem muito ricos.

Aos professores reconheço um esforço gigante com muita paciência e sabedoria. Foram eles que me deram recursos e ferramentas para evoluir um pouco mais todos os dias.

RESUMO

A infecção por *Escherichia coli* é uma das principais doenças da avicultura industrial moderna e causa grandes prejuízos econômicos no mundo inteiro. Devido à elevada prevalência da colibacilose aviária, a terapêutica com antimicrobianos tem sido abusivamente adotada, e assim tem ocorrido um aumento da resistência de *E. coli* a várias drogas antimicrobianas, trazendo preocupações para a saúde pública. Desta maneira, este estudo teve por objetivo realizar a enumeração de coliformes termotolerantes em carnes de frango resfriadas comercializadas no Distrito Federal e avaliar a resistência antimicrobiana das bactérias *E. coli* isoladas. Foram analisadas 30 amostras de carne de frango resfriadas de diferentes cortes e para a determinação de coliformes termotolerantes, as amostras foram inoculadas em caldo Lauril Sulfato Triptose, a 37°C por 24 h. Alíquotas dos tubos positivos foram inoculadas em caldo *Escherichia coli* (EC), em banho-maria a 45°C por 24 h. Do caldo EC foram isoladas as cepas de *E. coli* no meio Agar Mac Conkey. A susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de disco difusão (técnica de Kirby-Bauer). No presente estudo, das 30 amostras analisadas, 25 (83,3%) apresentaram coliformes termotolerantes ($0,4 \times 10$ a $1,1 \times 10^3$ NMP/g), sendo isoladas cepas de *E. coli* em 16 amostras (60%). Das 50 cepas de *E. coli* isoladas das amostras, observou-se que essas apresentaram mais resistência a Sulfonamida (72%), a Ciprofloxacina (64%) e a Tetraciclina (40%), sendo que 56% das cepas classificaram-se como multirresistentes, isto é, cepas resistentes a três classes de antibióticos ou mais. Conclui-se que apesar da quantificação de coliformes termotolerantes nas amostras de carnes de frango comercializadas no Distrito Federal estar dentro dos limites permitidos pela legislação brasileira (máximo de $5,0 \times 10^3$ NMP/g), a existência de cepas de *E. coli* com resistência antimicrobiana representa um risco ao consumidor, pela possibilidade da transmissão dessa resistência aos seres humanos.

Palavras-chave: colibacilose, coliformes termotolerantes, susceptibilidade a antimicrobianos

ABSTRACT

Infection by *Escherichia coli* is one of the main diseases of modern industrial poultry and causes great economic damage worldwide. Due to the high prevalence of colibacillosis in poultry, antimicrobial therapy has been abused, and consequently *E. coli* resistance to various antimicrobial drugs has been recorded, causing public health concerns. Thus, this study aimed to enumerate thermotolerant coliforms in chicken meats sold in the Federal District and to evaluate the antimicrobial resistance of isolated *E. coli* bacteria. Thirty samples of chilled chicken meat of different cuts were analyzed and for the determination of thermotolerant coliforms, the samples were inoculated in Lauril Sulfato Tryptose broth, at 37°C for 24 h. Aliquots of the positive tubes were inoculated in Escherichia coli broth (EC), in a water bath at 45°C for 24 h. and the *E. coli* strains were isolated from the EC broth in the Agar Mac Conkey medium. The susceptibility of the strains to antimicrobials was assessed using the disk diffusion technique (Kirby-Bauer technique). In the present study, of the 30 samples analyzed, 25 (83.3%) presented thermotolerant coliforms (0.4×10 to 1.1×10^3 NMP/g), and strains of *E. coli* were isolated in 16 samples (60%). Of the 50 strains of *E. coli* isolated from the samples, high resistance to Sulfonamide (72%), Ciprofloxacin (64%) and Tetracycline (40%) was observed, with 56% of the strains classified as multidrug-resistant, that is, strains resistant to three classes of antibiotics or more. It is concluded that despite the quantification of thermotolerant coliforms in the samples of chicken meat sold in the Federal District is within the limits allowed by Brazilian legislation (maximum of 5.0×10^3 MPN/g), the existence of strains of *E. coli* with antimicrobial resistance represents a risk to the consumer, due to the possibility of transmitting this resistance to humans.

Keywords: colibacillosis, thermotolerant coliforms, susceptibility to antimicrobials

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantificação de coliformes termotolerantes nas amostras de carne de frango.....	19
Tabela 2. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias <i>E. coli</i> isoladas das amostras de carnes de frango.....	20
Tabela 3. Pcentagem de cepas de <i>E. coli</i> isoladas das amostras de carnes de frango com resistência aos antimicrobianos testados.....	22
Tabela 4 - Perfis de multirresistência antimicrobiana das cepas de <i>E. coli</i> isoladas das amostras de carnes de frango.....	23

Sumário

1. Introdução	12
2. Revisão da literatura.....	13
2.1. Bactéria <i>Escherichia coli</i>	13
2.2. Colibacilose aviária	14
2.3. Resistência antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i>	15
3. Objetivo geral	16
3.2. Objetivos específicos	16
4. Justificativa	16
5. Materiais e métodos	17
5.1. Coleta das amostras	17
5.2. Análises microbiológicas.....	17
5.3. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos.....	17
6. Resultados e discussão.....	18
7. Conclusão	24
8. Referências Bibliográficas	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NMP = Número Mais Provável

caldo EC = caldo *Escherichia coli*

AMC = amoxicilina com ácido clavulânico

CAZ = ceftazidima

CTX = cefotaxima

GEN = gentamicina

CLO = cloranfenicol

IMP = imipenem

TET = tetraciclina

CIP = ciprofloxacina

SUL = sulfonamida

1. Introdução

Pelo fato de a carne de frango ser uma fonte de proteína com menor custo que a carne bovina, o seu consumo no Brasil nos últimos anos cresceu consideravelmente. Com isso, intensificou-se a criação de frango para abate, o que aumentou conseqüentemente as infecções das aves. *Escherichia coli* é uma bactéria residente comum do trato intestinal das aves, sendo que alguns sorotipos provocam diferentes processos infecciosos, os quais são coletivamente denominados colibacilose aviária. A infecção por *E. coli* (colibacilose) é uma das principais doenças da avicultura industrial moderna e dessa forma causa grandes prejuízos econômicos no mundo inteiro (CARDOSO et al., 2015; CARVALHO et al., 2015).

Com o aumento da colibacilose aviária, intensificou-se o uso dos antibióticos para tratar as aves. O uso indiscriminado dos antimicrobianos faz com que as aves permaneçam em contato com pequenas quantidades de medicamento por longos períodos. Em conseqüência disso, ocorre uma seleção de bactérias resistentes a diversos antimicrobianos (GONÇALVES e ANDREATTI FILHO, 2010; MOHAMED et al., 2014).

A *E. coli* possui predisposição para transferência de genes de resistência devido à quantidade de suas cepas e a capacidade de sobrevivência dentro e fora do trato gastrointestinal dos homens e dos animais. A resistência pode resultar em um aumento na virulência das cepas em decorrência da aquisição de novos genes, o que torna os animais portadores dessas bactérias resistentes um problema e preocupação de saúde pública (GOMES e MARTINEZ, 2017; MOHAMED et al., 2014).

A possível transferência de genes de resistência dos antimicrobianos presentes nos animais para seres humanos por meio dos alimentos, tem se tornado uma preocupação internacional. Grandes organizações tais como Organização Mundial da Saúde e Organização Internacional de Saúde Animal têm se mobilizado e se preocupado com as conseqüências desse fato, como o aumento da dificuldade no tratamento de infecções humanas (CARVALHO et al., 2015).

A possibilidade de haver uma resistência aos antimicrobianos transferível por meio dos alimentos, fez com que a União Europeia proibisse o uso de antibióticos nas rações dos animais. No Brasil, baseado nas recomendações das organizações internacionais de referência para ao uso racional de antimicrobianos em animais, o

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento proibiu o uso de diversos antimicrobianos com finalidade de aditivo melhorador de desempenho. Desta forma, foram proibidas no Brasil, desde 1998 até 2016, as classes e/ou substâncias antimicrobianas: avoparcina (1998); cloranfenicol e nitrofuranos (2003); anfenicóis, tetraciclina, b-lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas sistêmicas (2009); eritromicina e espiramicina (2012) e, mais recentemente, a colistina (2016) (BRASIL, 2017).

2. Revisão da literatura

2.1. Bactéria *Escherichia coli*

A bactéria *Escherichia coli* pertence à família *Enterobacteriaceae*, é um bastonete curto Gram negativo, que não forma esporos, geralmente são bactérias móveis pela presença de flagelos peritríquios, existindo também cepas imóveis. São bactérias anaeróbias facultativas e mesófilas e podem ser cultivadas em meios nutrientes comuns à temperatura de 18 a 44,5°C, com temperatura ótima de crescimento entre 37 a 41°C. É um habitante comensal do trato intestinal de todos os mamíferos e aves, no entanto diversas cepas possuem potencial patogênico (BRAGA et al., 2015; CUNHA et al., 2013).

A capacidade do microrganismo causar doença ocorre devido à aquisição de fatores de virulência que são codificados geneticamente e podem ser transferidos entre diferentes bactérias. A aquisição de elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons, têm um papel importante na formação do genoma de bactérias patogênicas. As ilhas de patogenicidade, que são grandes aglomerados de genes de virulência, podem ser encontradas em plasmídeos ou integradas no cromossomo bacteriano, no entanto, não são encontradas em bactérias não patogênicas. Esses genes de virulência tornam as bactérias capazes de se adaptar a vários hospedeiros e de colonizar, multiplicar e causar doenças diversas (KAPER et al., 2004; SHAMES et al., 2009).

Os estudos sobre as cepas patogênicas de *E. coli* mostraram que estas possuem mecanismos de virulência específicos. Com base nestes fatores de virulência, mecanismo de ação e patogenicidade essas cepas foram classificadas em patótipos: enteropatogênicos (EPEC), enterotoxigênicos (ETEC),

enteroinvasivos (EIEC), enterohemorrágicos (EHEC), enteroagregativos (EAEC), difuso-aderentes (DAEC), uropatogênicos (UPEC), meningite neonatal (MNEC) e patogênicos para aves (APEC). Os patótipos EPEC, ETEC, EIEC, EHEC, EAEC e DAEC são patogênicos intestinais ou diarreiogênicos e os patótipos UPEC, MNEC e APEC são patogênicos extraintestinais (ExPEC) (CUNHA et al., 2013).

2.2. Colibacilose aviária

O termo colibacilose refere-se à infecção causada nas aves por *Escherichia coli* e essa doença está relacionada principalmente a cepas de *E. coli* APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*), embora outros patótipos de *E. coli* possam causar essa doença nas aves. Em aves comerciais, a colibacilose está associada, na maioria das vezes, a infecções extraintestinais, principalmente do trato respiratório ou infecções sistêmicas. A colibacilose se caracteriza por uma síndrome complexa na qual se observam lesões em órgãos, como sacos aéreos, fígado (peri-hepatite) e coração (pericardite), levando à rejeição de carcaças de frango no abatedouro. O período de incubação varia de 12 a 72 horas. A taxa mortalidade é de 5 a 20%, com pico de mortalidade ocorrendo cinco dias após o início da doença. Os sorotipos de *E. coli* que causam doença extraintestinal são denominados de *E. coli* ExPEC (Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*). A maioria das APEC são ExPEC e compartilham características com os ExPEC de mamíferos (BRAGA et al., 2015; DORADO-GARCÍA et al., 2017; HUIJBERS et al., 2016; OZAKI et al., 2017).

As APEC estão presentes principalmente na microbiota do intestino de aves domésticas e silvestres. A transmissão horizontal da bactéria ocorre pelo contato com outras aves ou por meio de fezes, água e alimentos contaminados. Frequentemente, as aves são contaminadas por inalação de poeira, que pode conter grande quantidade de APEC. Já foi demonstrado que o risco de ocorrência da colibacilose aumenta com a elevação do nível de contaminação ambiental. A limpeza do ambiente aviário e um correto intervalo entre os lotes, que permita o tratamento da cama de frango para reuso ou a troca deste, reduz significativamente a carga bacteriana e são medidas importantes de controle da colibacilose aviária (BRAGA et al., 2015; GOMES et al., 2017).

A colibacilose é uma doença de grande relevância econômica na avicultura mundial por ser uma das principais causas de queda na produtividade, custos com

tratamento e condenação de carcaças de aves. Além do impacto em saúde animal, a hipótese de que aves comerciais possam atuar como fonte e reservatório de *E. coli* contendo genes de virulência e de resistência tem sido considerada. Estudos que compararam APEC e *E. coli* isolada de diferentes amostras clínicas humanas sustentam essa hipótese (BAUCHART et al., 2010; TIVENDALE et al., 2010). APEC não causa doença em humanos, mas pode ser responsável pela transferência de genes de virulência e resistência entre bactérias, que é um problema atual e muito discutido sobre o aspecto da saúde pública (BRAGA et al., 2015; CUNHA et al., 2013).

2.3. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli*

A disseminação de microrganismos resistentes aos antimicrobianos é em grande parte resultado da pressão seletiva imposta pelo homem, através do uso irracional desses antimicrobianos, seja pelas prescrições desnecessárias, pelo uso incorreto em tratamentos sem diagnóstico estabelecido, pelo uso empírico ou através dos resíduos de antimicrobianos presentes no meio ambiente (LEVIN et al., 2014; WEBER et al., 2015). As bactérias têm a capacidade de transferir seu material genético para outras, contribuindo para a disseminação de genes de resistência entre as diferentes populações. Desta maneira, a resistência aos antimicrobianos é um problema com graves implicações clínicas e para a saúde pública, pois limita as possibilidades terapêuticas (CÁRDENAS-PEREA et al., 2014).

Poucos microrganismos demonstraram a capacidade de desenvolver resistência a tantas classes de antimicrobianos quanto as bactérias da família *Enterobacteriaceae*. Dos gêneros bacterianos que pertencem a esta família, *E. coli* só é superada por *Klebsiella* no número de infecções humanas associadas a bactérias multirresistentes. E nas últimas décadas observou-se o surgimento e a propagação de cepas de *E. coli* resistentes às principais classes de antibióticos, como β -lactâmicos, quinolonas, aminoglicosídeos, sulfonamidas e fosfomicina. E de forma alarmante, essa resistência também se ampliou para classes de antibióticos de último recurso, como as polimixinas e os carbapenêmicos. Uma vez que os agentes antimicrobianos têm um grande impacto na microbiota intestinal, onde *E. coli* reside, a busca por *E. coli* multirresistente tornou-se um dos principais indicadores para estimar a carga da resistência antimicrobiana em animais produtores de alimentos em uma perspectiva de saúde pública (POIREL et al., 2018).

3. Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi realizar a quantificação de coliformes termotolerantes em carnes de frango resfriadas comercializadas no Distrito Federal, isolar cepas de *Escherichia coli* dessas amostras e avaliar a resistência antimicrobiana das bactérias isoladas.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes e isolar cepas de *E. coli* das amostras de carne de frango
- Realizar teste de susceptibilidade antimicrobiana das cepas de *E. coli* utilizando o método de disco-difusão (Kirby-Bauer).

4. Justificativa

O consumo no Brasil de carnes de frango tem aumentado nas últimas décadas em função do seu alto valor nutritivo e de seu custo acessível, quando comparado a outras carnes. Com o consumo de carne de frango aumentando, cresce também a preocupação com o controle de qualidade dessa carne. Alguns microrganismos que podem ser veiculados por este alimento causam preocupação pelo potencial de causar doenças transmitidas por alimentos. Dessa forma, estudos da qualidade microbiológica e da incidência de microrganismos potencialmente patogênicos têm importância para a saúde pública e permitem determinar se a carne de frango resfriada e exposta ao consumo em supermercados da cidade de Brasília e região apresenta segurança alimentar.

5. Materiais e métodos

5.1. Coleta das amostras

As 30 amostras de carne de frango (peito, coxa, sobrecoxa e outros cortes) embaladas em bandejas e expostas ao consumo nos balcões refrigerados foram coletadas em diferentes estabelecimentos comerciais como supermercados e padarias do Distrito Federal. Todas as amostras foram transportadas resfriadas dos locais de estudo para o laboratório no tempo de 30-50 min. e no prazo máximo de 1 hora após a coleta foram iniciadas as análises microbiológicas.

5.2. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Ceilândia, UNB. Para o preparo das amostras, foram pesadas, assepticamente, 25 g de cada amostra e diluídas em 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v). Para a determinação do Número Mais Provável de coliformes termotolerantes, as amostras foram inoculadas em caldo Lauril Sulfato Triptose, a 37°C por 24 h. Alíquotas dos tubos positivos foram inoculadas em caldo *Escherichia coli* (caldo EC) em banho-maria a 45°C por 24 h. Do caldo EC foram isoladas as cepas de *E. coli* no meio Agar Mac Conkey. Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média e desvio padrão.

5.3. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos

A susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de disco difusão, utilizando protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2013). Os antimicrobianos e as concentrações em microgramas testados foram: 1) AMC, amoxicilina com ácido clavulânico (10 µg) (β-lactâmico/penicilina), 2) CAZ, ceftazidima (30 µg) (β-lactâmico/cefalosporina), 3) CTX, cefotaxima (30 µg) (β-lactâmico/cefalosporina), 4) GEN, gentamicina (10 µg) (aminoglicosídeo), 5) CLO, cloranfenicol (30 µg) (fenicol), 6) IMP, imipenem (10 µg) (β-lactâmico/carbapenem), 7) TET, tetraciclina (30 µg) (tetraciclina), 8) CIP, ciprofloxacina (5 µg) (quinolona) e 9) SUL, sulfonamida (300 µg) (sulfonamida)

(NEWPROV®). As zonas de inibição foram medidas e classificadas como sensível e resistente de acordo com recomendações do CLSI (2020).

6. Resultados e discussão

Na Tabela 1 está apresentada a quantificação de coliformes termotolerantes nas amostras de carnes de frango avaliadas neste estudo. Das 30 amostras de carnes de frango analisadas, 25 amostras (83,3%) apresentaram coliformes termotolerantes, porém a enumeração dessas amostras estava dentro dos limites permitidos tanto pela legislação brasileira (máximo de $5,0 \times 10^3$ NMP/g) (BRASIL, 2019), quanto pela legislação da Nova Zelândia (máximo de $2,0 \times 10^3$ NMP/g) (NOVA ZELÂNDIA, 1995). E dessas 25 amostras de carnes de frango que apresentaram coliformes termotolerantes, foram isoladas cepas de *E. coli* em 18 amostras (60%).

Tabela 1. Quantificação de coliformes termotolerantes nas amostras de carne de frango

Amostras de frango	Cortes de carne de frango	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	<i>E. coli</i>
1	Coxinha da asa	$1,3 \times 10^1$	presente
2	Peito	$2,2 \times 10^1$	ND
3	Coxinha da asa	$0,4 \times 10^1$	presente
4	Sobrecoxa	ND	ND
5	Filé de peito	$2,9 \times 10^2$	presente
6	Coxa	$0,4 \times 10^1$	presente
7	Peito	ND	ND
8	Coxinha da asa	$1,1 \times 10^1$	presente
9	Coxa	ND	ND
10	Coxinha da asa	$4,3 \times 10^1$	presente
11	Sobrecoxa	ND	ND
12	Sobrecoxa	$1,1 \times 10^3$	presente
13	Coxa	$3,5 \times 10^1$	ND
14	Coxinha da asa	$1,5 \times 10^2$	ND
15	Coxinha da asa	$0,4 \times 10$	presente
16	Sobrecoxa	$0,9 \times 10$	ND
17	Coxa	$9,0 \times 10$	presente
18	Sobrecoxa	$9,0 \times 10^2$	presente
19	Coxinha da asa	$1,7 \times 10$	presente
20	Sobrecoxa	$1,4 \times 10$	ND
21	Peito	$2,6 \times 10$	presente
22	Coxinha da asa	$5,0 \times 10$	presente
23	Sobrecoxa e coxa	ND	ND
24	Coxinha da asa	$0,4 \times 10$	presente
25	Coxinha da asa	$3,5 \times 10^2$	presente
26	Coxa	$0,7 \times 10$	presente
27	Sobrecoxa e coxa	$0,9 \times 10$	ND
28	Coxinha da asa	$1,1 \times 10^2$	presente
29	Peito	$0,4 \times 10$	ND
30	Filé de peito	$0,4 \times 10$	presente

ND = não detectado. Limites da legislação brasileira para coliformes termotolerantes = $5,0 \times 10^3$ NMP/g. Limites da legislação da Nova Zelândia para coliformes termotolerantes = $2,0 \times 10^3$ NMP/g.

O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das 50 cepas de *E. coli*, isoladas das amostras de carne de frango, está apresentado na Tabela 2. No presente estudo, as cepas apresentaram mais resistência a Sulfonamida (72%), a Ciprofloxacina (64%) e a Tetraciclina (40%). Os antimicrobianos aos quais as cepas

apresentaram maior sensibilidade foram: Imipenem (90%), Ceftazidima (78%), Cloranfenicol (72%) e Amoxicilina com ácido clavulânico (72%).

Tabela 2. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias *E. coli* isoladas das amostras de carnes de frango

Antibióticos	S n (%)	I n (%)	R n (%)	HALO S (mm)	HALO I (mm)	HALO R (mm)
Amoxicilina*	36 (72%)	4 (8%)	10 (20%)	> 18	14-17	< 13
Sulfonamida	12 (24%)	2 (4%)	36 (72%)	> 17	13-16	< 12
Gentamicina	30 (60%)	9 (18%)	11 (22%)	> 15	13-14	< 12
Tetraciclina	29 (58%)	1 (2%)	20 (40%)	> 15	12-14	< 11
Cloranfenicol	36 (72%)	1 (2%)	13 (26%)	> 18	13-17	< 12
Ciprofloxacina	9 (18%)	9 (18%)	32 (64%)	> 31	21-30	< 20
Imipenem	45 (90%)	4 (8%)	1 (10%)	> 23	20-22	< 19
Ceftazidima	39 (78%)	1 (2%)	10 (20%)	> 21	18-20	< 17
Cefotaxima	34 (68%)	4 (8%)	12 (24%)	> 26	23-25	< 22

S = sensível; I = intermediário; R = resistente; n = número de cepas; % = porcentagem em relação ao total de 50 cepas. *amoxicilina com ácido clavulânico.

No estudo de Yassin et al. (2017), com 644 cepas de *E. coli* isoladas de amostras de frango, as cepas apresentaram resistência de 78,9% às sulfonamidas. Segundo os autores, os altos níveis de resistência às sulfonamidas encontrados no estudo não são inesperados, já que as sulfonamidas têm sido usadas em larga escala e continuamente por mais de 80 anos como agentes antimicrobianos em humanos e animais. Assim a resistência às sulfonamidas se espalhou extensivamente entre as bactérias.

De acordo com Ljubojević et al. (2017), as tetraciclina têm sido amplamente utilizadas na produção avícola há décadas. No estudo de Álvarez-Fernández et al. (2013), foram analisadas amostras de frango orgânico e de frango convencional de oito pontos de venda na província de León, no noroeste da Espanha e os autores observaram que a resistência à tetraciclina foi de 40,0% em frangos convencionais e 46,7% em frango orgânico. Segundo os autores, a elevada resistência à tetraciclina

em *E. coli* isolada de carne de frango do sistema orgânico de criação foi inesperada e surpreendente e pode possivelmente ser explicada pelo fato de as tetraciclinas terem sido usadas em granjas na Espanha por um longo período. Isso pode ter levado a *E. coli* evoluir para se tornar resistente às Tetraciclinas, o que contribuiu para a ampla distribuição destas cepas resistentes em animais como reservatório, independentemente do tipo de produção e do uso de antibióticos na criação.

A resistência das cepas às quinolonas como ácido nalidíxico, ciprofloxacina e enrofloxacina provavelmente se deve ao uso excessivo dessa classe de antibiótico para fins terapêuticos e de prevenção. As fluoroquinolonas são extremamente importantes para o tratamento de infecções graves por *E. coli* em humanos e uma supervisão contínua é necessária para detectar fenótipos resistentes às quinolonas emergentes (POIREL et al., 2012). Mohamed et al. (2014) encontraram elevada taxa de resistência à enrofloxacina em amostras de *E. coli* isoladas de frango de corte. No trabalho de Kmet & Kmetova (2010), isolados de *E. coli* de frangos de corte saudáveis também apresentaram níveis elevados de resistência a ácido nalidíxico (média de 79,3%), a ciprofloxacina (média de 44%) e a enrofloxacina (média de 38,7%). O estudo de Li et al. (2019) mostrou que o tratamento de infecções em frango com enrofloxacina selecionou cepas de *E. coli* multirresistentes no intestino desses frangos e segundo os autores a multirresistência a fluoroquinolonas, β -lactâmicos e tetraciclina ocorreu nas cepas de *E. coli* comensais de galinhas saudáveis após serem oralmente tratadas com enrofloxacina ou amoxicilina.

Neste estudo, das 50 cepas de *E. coli* testadas, 4 cepas (8%) mostraram-se sensíveis a todos os antimicrobianos testados, 18 cepas (36%) apresentaram-se resistentes a um ou dois tipos de antimicrobianos testados e 28 cepas (56%) classificaram-se como multirresistentes, isto é, cepas resistentes a três classes de antibióticos ou mais, sendo que 10 cepas (20%) apresentaram multirresistência a 5 ou 6 dos 9 antimicrobianos testados (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem de cepas de *E. coli* isoladas das amostras de carnes de frango com resistência aos antimicrobianos testados

Números de classes de antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram resistência	Número de cepas (%) *
0 (sensível a todos antimicrobianos)	4 (8%)
1 ou 2	18 (36%)
3	8 (16%)
4	10 (20%)
5	6 (12%)
6	4 (8%)
Cepas multirresistentes (3, 4, 5, ou 6)	28 (56%)
Total	50 (100%)

* % = porcentagem em relação ao total de 50 cepas

O estudo de Zhang et al. (2017) realizado na China sobre resistência antimicrobiana em cepas de *E. coli* isoladas de frango no período de 2008 a 2015, analisou 7.568 cepas de *E. coli* e revelou que 89,2% das cepas apresentaram resistência a múltiplos antimicrobianos. Os resultados mostraram 89,5% das cepas eram resistentes a tetraciclina e 86,4% das cepas eram resistentes a sulfonamidas. O estudo de Ibrahim et al. (2019) feito na Jordânia, com 269 amostras de *E. coli*, evidenciou altas taxas de resistência a diversos antimicrobianos. As maiores taxas foram encontradas para sulfametoxazol-trimetoprima (95,5%), florfenicol (93,7%) e amoxicilina (93,3%). O único antimicrobiano que não apresentou resistência nesse estudo foi o imipenem.

Quanto ao Brasil, os estudos evidenciam altas taxas de resistência de *E. coli* isoladas de frango a diversos antimicrobianos. Cardoso et al. (2019) realizaram em São Paulo um estudo de 76 isolados de *E. coli* de frangos de corte e a análise revelou que 78,9% das cepas apresentaram multirresistência. A maior taxa de resistência foi à amoxicilina (82,8%) e a menor taxa de resistência foi à gentamicina (13,2%). Cardoso et al. (2015), isolaram 60 cepas de *E. coli* de aves comerciais de alguns estados brasileiros (Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul e São Paulo) e encontraram

as seguintes taxas de resistência: 96,7% a amoxicilina, 71,7% a tetraciclina e 58,3% a sulfametoxazol-trimetoprima.

A Tabela 4 apresenta os perfis de multirresistência antimicrobiana das cepas de *E. coli* desse estudo. Foram identificados 23 diferentes perfis de multirresistência antimicrobiana.

Tabela 4 - Perfis de multirresistência antimicrobiana das cepas de *E. coli* isoladas das amostras de carnes de frango

Perfis	Resistência Antimicrobiana	Número de antimicrobianos*	Número de cepas**
1	CIP, TET, SUL, CTX, CLO, GEN	6	1
2	CIP, CAZ, TET, SUL, CLO, GEN	6	2
3	CIP, TET, SUL, CLO, GEN, AMC	6	1
4	CIP, TET, SUL, CTX, CLO	5	1
5	CIP, CAZ, SUL, CTX, CLO	5	1
6	CIP, TET, SUL, CLO, AMC	5	1
7	CIP, TET, SUL, CTX, GEN	5	1
8	CAZ, TET, SUL, CLO, GEN	5	1
9	CIP, TET, SUL, CLO, GEN	5	1
10	CIP, CAZ, TET, SUL	4	1
11	CIP, TET, SUL, AMC	4	1
12	CIP, TET, SUL, CTX	4	1
13	CIP, TET, SUL, GEN	4	2
14	CIP, CAZ, SUL, CTX	4	1
15	CIP, CAZ, SUL, CLO	4	1
16	CIP, TET, SUL, CLO	4	3
17	CIP, SUL, CLO	3	1
18	TET, SUL, GEN	3	1
19	CIP, TET, SUL	3	2
20	CIP, SUL, CTX	3	1
21	SUL, CLO, AMC	3	1
22	CIP, CAZ, SUL	3	1
23	CAZ, TET, SUL	3	1
Total de cepas			28

* Número de antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram resistência; Número de cepas ** = número de cepas com perfil de resistência

O uso abusivo de antimicrobianos, não só na medicina humana, mas também na medicina veterinária, onde estes são usados no tratamento de doenças, profilaxias e como promotores de crescimento em animais, origina uma pressão seletiva que favorece a emergência de bactérias resistentes (BENGTSSON e GREKO, 2014). E o

uso de antimicrobianos em doses subterapêuticas, pode levar à emergência de resistência, em vários tipos de espécies de bactérias, inclusive nas comensais do organismo humano, gerando uma alta probabilidade de disseminação de genes de resistência. Portanto, é importante que se tenha um monitoramento contínuo da resistência e prevalência dessas bactérias, levando em consideração as implicações que a multirresistência pode causar a saúde pública (PERIN, 2017).

7. Conclusão

Sendo assim, foi possível concluir que apesar da quantificação de coliformes termotolerantes nas amostras de carnes de frango comercializadas no Distrito Federal estar dentro dos limites permitidos pela legislação brasileira (máximo de $5,0 \times 10^3$ NMP/g), a existência de cepas de *E. coli* com resistência antimicrobiana representa um risco ao consumidor, pela possibilidade da transmissão dessa resistência aos seres humanos. Os estudos continuados da incidência de microrganismos potencialmente patogênicos e de sua resistência a antimicrobianos em alimentos como a carne de frango são importantes para monitorar a dispersão de resistência antimicrobiana e tentar garantir a segurança alimentar do consumidor.

8. Referências Bibliográficas

ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, E., CANCELO, A., DÍAZ-VEGA, C., CAPITA, R. and ALONSO-CALLEJA, C. Antimicrobial resistance in *E. coli* isolates from conventionally and organically reared poultry: A comparison of agar disc diffusion and Sensi Test Gram-negative methods. **Food Control**, v. 30, n. 1, p. 227-234, 2013.

BAUCHART, P.; GERMON P.; BRÉE A.; OSWALD E.; HACKER J.; DOBRINDT U. Pathogenomic comparison of human extraintestinal and avian pathogenic *Escherichia coli* search for factors involved in host specificity or zoonotic potential. **Microbial Pathogenesis**, v.49, n.3, p.105-115, 2010.

BENGTSSON, B.; GREKO, C. Antibiotic resistance - consequences for animal health, welfare, and food production. **Upsala Journal of Medical Sciences**, v. 119, n. 2, p. 96-102, 2014.

BRAGA, J. F. V.; ECCO, R.; MARTINS, N. R. S. Colibacilose em aves comerciais. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, n. 76, p. 126-140, 2015.

BRASIL, Agência Nacional Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. 2019. Disponível em:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-ndeg-60-de-23-de-dezembro-de-2019.pdf/view>

BRASIL, 2017, Lista de substâncias proibidas e legislação correspondente (Atualizado em 02/10/2017). Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/arquivos-de-insumos-pecuarios/Substanciasproibidas.pdf>

CÁRDENAS-PEREA, M. E.; CRUZ, O. R.; GÁNDARARAMÍREZ, L. J. L.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, M. A. Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. **Elementos**, v.21, n.94, p.35-43, 2014.

CARDOSO, A.L.S.P., et al. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isolada de aves comerciais. **Biológico**, v. 81, p 1-8, 2019.

CARDOSO, A. L. S. P. et al. Avaliação do perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isolada de aves comerciais. **Revista Nutritime**, Viçosa, v. 12, n. 5, p.4216-4222, 2015.

CARVALHO, D. et al. Antimicrobial susceptibility and pathogenicity of *Escherichia coli* strains of environmental origin. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 7, p. 1249-1255, 2015.

CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020, **Bula de Bancada: Antibiograma, Interpretação das zonas de inibição e concentração inibitória mínima.**

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-third informational supplement.** CLSI M100-S23, Wayne.

CUNHA, M.P.V; MENÃO, M.C.; FERREIRA, A.J.P.; KNÖBL, T. A similaridade genética de *Escherichia coli* patogênica para as aves (APEC) com estirpes humana e a resistência antimicrobiana justificam a preocupação sanitária em relação aos produtos de origem aviária? **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 11, n. 2, p. 24 – 33, 2013.

DORADO-GARCÍA, A. et al. Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from humans, animals, food and the environment: a pooled analysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 2, p. 339-347, 2017.

GOMES, D. S.; MARTINEZ, A. C. **Colibacilose aviária em frangos de corte: revisão de literatura.** 2017, Umuarama. **Anais...** Umuarama: II Simpósio Produção Sustentável e Saúde Animal, 2017.

GONÇALVES, G. A. M.; ANDREATTI FILHO, R.L. Susceptibilidade antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de frango industrial (*Gallus gallus Domesticus Linnaeus*, 1758) com colibacilose. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.4, p.715-718, 2010.

HUIJBERS, P. M. C. et al. Transmission dynamics of extended-spectrum β -lactamase and AmpC β lactamase-producing *Escherichia coli* in a broiler flock without antibiotic use. **Preventive Veterinary Medicine**, p. 13112-13119, 2016.

IBRAHIM, R. A. et al. Identification of *Escherichia coli* from broiler chickens in Jordan, their antimicrobial resistance, gene characterization and the associated risk factors. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, p. 159, 2019.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 123-140, 2004.

KMET V.; KMETOVA M. High levels of quinolone resistance in *Escherichia coli* from healthy chicken broilers. **Folia Microbiology**, v. 55, p. 79-82, 2010.

LEVIN, BRUCE R.; BAQUERO, FERNANDO; JOHNSEN, PÅL J. A model-guided analysis and perspective on the evolution and epidemiology of antibiotic resistance and its future. **Current Opinion in Microbiology**, v.19, p.83-89, 2014.

LI, J. et al. Resistance and virulence mechanisms of *Escherichia coli* selected by enrofloxacin in chicken. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n. 5, 2019.

LJUBOJEVIĆ, D., PELIĆ, M., PUVAČA, N., MILANOV, D. Resistance to tetracycline in *Escherichia coli* isolates from poultry meat: epidemiology, policy and perspective. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, p. 409-417, 2017.

MOHAMED, M. A.; SHEHATA, M. A.; RAFEEK, E. Virulence genes content and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* form broiler chickens. **Veterinary Medicine International**, p.1-6, 2014.

NOVA ZELÂNDIA, Food Administration, Manual microbiological reference criteria for food, 1995.

Disponível

em:

http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Microbiological_Reference-Guide_Assess.pdf

OZAKI, H., MATSUOKA, Y., NAKAGAWA, E. & MURASE, T. Characteristics of *Escherichia coli* isolated from broiler chickens with colibacillosis in commercial farms from a common hatchery. **Poultry Science**, v. 96, n. 10, p. 3717-3724, 2017.

PERIN, A. P. **Ocorrência e quantificação de *Salmonella* sp. em cortes de frango congelados: levantamento epidemiológico no Estado do Paraná e perfil de suscetibilidade e antimicrobianos.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, 103 p., 2017.

POIREL, L. et al. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. **Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals**, p. 289-316, 2018.

POIREL, L.; CATTOIR, V.; NORDMANN, P. Plasmid-mediated quinolone resistance; interactions between human, animal, and environmental ecologies. **Frontiers Microbiology**, v. 3, p. 24, 2012.

SHAMES, S. R.; AUWETER, S. D.; FINLAY, B. B. Co-evolution and exploitation of host cell signaling pathways by bacterial pathogens. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 41, p. 380-389, 2009.

TIVENDALE K.A.; LOGUE C.M.; KARIYAWASAM S.; JORDAN D.; HUSSEIN A., LI G.; WANNEMUEHLER Y.; NOLAN L.K. Avian-pathogenic *Escherichia coli* strains are similar to neonatal meningitis *E. coli* strains and are able to cause meningitis in the rat model of human disease. **Infection and Immunity**, v.78, p.3412-3419, 2010.

WEBER, T.; CHARUSANTI, P.; MUSIOL-KROLL, E. M.; JIANG, X.; TONG, Y.; KIM, H. U.; LEE, S. Y. Metabolic engineering of antibiotic factories: new tools for antibiotic production in actinomycetes. **Trends in Biotechnology**, v.33, n.1, p.15-26, 2015.

YASSIN, A. K. et al. Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolates from poultry and livestock, China, **PLoS ONE**, v. 12, n. 9, p.e0185326

ZHANG, P. et al. Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* from chicken and swine, China, 2008-2015. **Veterinary Microbiology**, v. 203, p.49-55, 2017.