



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

LAURA MARIA ARAÚJO RÊGO

**BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS ISOLADOS DE
AMOSTRAS DE ALIMENTOS**

BRASÍLIA, 2020



LAURA MARIA ARAÚJO RÊGO

**BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS ISOLADOS DE
AMOSTRAS DE ALIMENTOS**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada
como requisito parcial para obtenção do grau de
Farmacêutico, Faculdade de Ceilândia,
Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Alex Pereira Leite

Co-Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

BRASÍLIA, 2020

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

Rb Rego, Laura Maria
BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS
ISOLADOS DE AMOSTRA DE ALIMENTOS / Laura Maria Rego;
orientador Alex Leite; co-orientador Daniela Orsi. --
Brasília, 2020.
34 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2020.

1. Resistência Antimicrobiana. 2. Frango. 3.
Entrebaterias . I. Leite, Alex, orient. II. Orsi, Daniela,
co-orient. III. Título.



LAURA MARIA ARAÚJO RÊGO

**BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS ISOLADOS DE AMOSTRAS
DE ALIMENTOS**

BANCA EXAMINADORA

Orientador Prof. Dr. Alex Pereira Leite
UnB - FCE

Co-Orientadora Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi
UnB - FCE

Mestranda Erika da Silva Monteiro
UnB - FCE

Profa. Dra. Thaís Alves da Costa Lamounier
UnB - FCE

BRASÍLIA, 2020

A Deus por me nutrir com fé e esperança, aos meus pais por sempre persistirem no meu aprendizado e crescimento. E a meu querido filho que está por vir

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por tudo que tem feito em minha vida.

A minha família, mãe e pai, por sempre estarem ao meu lado independente das minhas decisões, sempre me apoiaram e incentivaram. Meus irmãos que sempre tiveram paciência com meus surtos e ficaram ao meu lado me dando suporte, amo vocês.

Minha madrinha Zileide que sempre está ao meu lado conversando e me distraindo. Meus avós por sempre se importarem e me amarem.

Ao meu orientador Alex Pereira, por ter me inserido neste mundo de pesquisa científica, e por ter disponibilidade, dedicação e confiança, e ser responsável pelo meu crescimento profissional. E a minha co-orientadora Dani Orsi, que persistiu no meu trabalho, sempre esteve presente. Vocês são fantásticos.

Aos meus amigos (queria citar todos do grupo topzera), e meu quinteto que fiz na faculdade e quero levar sempre comigo, por todas as festas, jogos, e parcerias nas aulas de laboratório.

E as minhas amigas de infância, Camila, Raissa, Stefany, Giovanna por sempre estarem presentes na minha vida nos momentos bons e ruins (principalmente), por me incentivar, me empoderar e nunca se distanciar. Vocês são tudo na minha carreira.

À todas as pessoas que contribuíram mesmo que indiretamente para a minha formação.

E por último, mas não menos importante a Universidade de Brasília pela oportunidade de aprender com os melhores professores e pesquisar no laboratório de análises moleculares, onde artigos de suma importância são elaborados.

“A persistência é o menor caminho do êxito” (Charles Chaplin)

RESUMO

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. O objetivo deste estudo foi verificar a ocorrência de enterobactérias resistentes a antimicrobianos em amostras de carnes de frango resfriadas e expostas ao consumo nos supermercados do Distrito Federal. Para as análises microbiológicas, no período de 2018 a 2019 foram coletadas de diferentes supermercados do Distrito Federal, 75 amostras de carnes de frango refrigeradas. Das amostras de carne de frango foram isoladas 105 cepas de enterobactérias (33 cepas de *Escherichia coli* e 72 cepas de *Salmonella spp.*) que foram submetidas a teste de susceptibilidade aos antimicrobianos conforme metodologia de Kirby Bauer. Os resultados mostraram que as enterobactérias apresentaram maior resistência à amoxicilina com ácido clavulânico (53,33%), a sulfonamida (53,33%) e a tetraciclina (48,57%). E 64,76% das enterobactérias foram resistentes ou intermediárias a ciprofloxacina. As cepas de *Salmonella spp.* foram mais resistentes a amoxicilina com ácido clavulânico (65,28%) do que as cepas de *E. coli* (27,27%). Em relação a sulfonamida, as cepas de *E. coli* foram mais resistentes (81,82%) do que as cepas de *Salmonella spp.* (40,28%). Ambas as cepas de *E. coli* (42,42%) e de *Salmonella spp.* (40,28%) apresentaram perfil parecido de resistência a tetraciclina. As cepas de *E. coli* foram notavelmente resistentes a ciprofloxacina (78,79%). Em relação as cepas de *Salmonella spp.* foram resistentes ou intermediária a ciprofloxacina foi de 52,78%. Das 33 cepas de *E. coli* avaliadas, 18 cepas (54,6%) classificaram-se como multirresistentes, isto é, cepas resistentes a três classes de antimicrobianos. E das 72 cepas de *Salmonella spp.* testadas, 28 cepas (38,9%) classificaram-se como multirresistentes. A disseminação de bactérias resistentes a antimicrobianos em alimentos de origem animal como a carne de frango se torna um problema de saúde pública pelo potencial de transmissão da resistência antimicrobiana aos seres humanos através desses alimentos contaminados.

PALAVRAS-CHAVE: frango, resistência antimicrobiana, enterobactérias, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The abusive use of antimicrobial, not only in human medicine, but also in veterinary medicine, where they are used in the treatment of diseases, prophylaxis and as growth promoters in animals, creates a selective pressure that favors the emergence of resistant bacteria. The aim of this study was to verify the occurrence of antimicrobial-resistant enterobacteria in samples of chilled chicken meat exposed to consumption in supermarkets in the Federal District. For microbiological analyzes, in the period from 2018 to 2019, 75 samples of refrigerated chicken meat were collected from different supermarkets in the Federal District. From the samples of chicken meat, 105 strains of enterobacteria were isolated (33 strains of *Escherichia coli* and 72 strains of *Salmonella spp.*) which were subjected to antimicrobial susceptibility testing according to Kirby Bauer's methodology. The results showed that enterobacteria were more resistant to amoxicillin with clavulanic acid (53.33%), sulfonamide (53.33%) and tetracycline (48.57%). And 64.76% of the enterobacteria were resistant or intermediate to ciprofloxacin. *Salmonella spp.* strains were much more resistant to amoxicillin with clavulanic acid (65.28%) than *E. coli* strains (27.27%). In relation to sulfonamide, *E. coli* strains were much more resistant (81.82%) than *Salmonella spp.* strains (40.28%). Both strains of *E. coli* (42.42%) and *Salmonella spp.* (40.28%) showed a similar profile of resistance to tetracycline. *E. coli* strains were remarkably resistant to ciprofloxacin (78.79%). In relation to the strains of *Salmonella spp.* the resistance or intermediate to ciprofloxacin was 52.78%. Of the 33 strains of *E. coli* evaluated, 18 strains (54.6%) were classified as multidrug-resistant, that is, strains resistant to three classes of antimicrobial. And of the 72 strains of *Salmonella spp.* tested, 28 strains (38.9%) were classified as multi-resistant. The spread of antimicrobial-resistant bacteria in foods of animal origin such as chicken meat becomes a public health problem because of the potential for transmission of this antimicrobial resistance to humans through these contaminated foods.

KEYWORDS: chicken, antimicrobial resistance, enterobacteria, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
LISTAS DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS	12
1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Resistência aos antimicrobianos na produção animal	13
1.2. Bacilos Gram negativos (BGN)	15
1.3. Resistência das enterobactérias aos antimicrobianos β -lactâmicos e as quinolonas	16
1.4. Uso racional de antimicrobianos na produção animal	17
2. JUSTIFICATIVA	19
3. OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVOS GERAIS	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4. METODOLOGIA	20
4.1 Coleta, preparo das amostras e análises microbiológicas	20
4.2 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
8. ANEXOS	35
Fonte: Bula de Bancada – Edição CLSI 2020 - Antibiograma – Interpretação das zonas de inibição e concentração inibitória mínima.	35

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de enterobactérias isoladas das amostras de carnes de frango.....	22
Figura 2 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das 33 cepas de <i>E.coli</i> isoladas das amostras de carne de frango.....	23
Figura 3 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das 72 cepas de <i>Salmonella spp.</i> isoladas das amostras de frango.....	24



LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de cepas de <i>E. coli</i> isoladas das amostras de carnes de frango com resistência aos antimicrobianos testados.....	27
Tabela 2. Número de cepas de <i>Salmonella</i> isoladas das amostras de carnes de frango com resistência aos antimicrobianos testados.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS

BGN - Bacilo Gram negativo

ESBL - bactérias produtoras de β -lactamases de espectro estendido

mL – Mililitro

SS - ágar Salmonella Shigella

XLD - ágar Xilose Lisina Desoxicolato

TSI - ágar três açúcares e ferro

EC - caldo *Escherichia coli*

μ g - microgramas

1. INTRODUÇÃO

1.1. Resistência aos antimicrobianos na produção animal

A resistência aos antimicrobianos constitui um dos maiores desafios atuais no âmbito da saúde pública, uma vez que prediz que até 2050 possivelmente 10 milhões de pessoas em todo o mundo poderão morrer vítimas de infecções por microrganismos resistentes. O impacto das bactérias resistentes e o uso indiscriminado de antimicrobianos é um problema mundial que vem preocupando tanto o meio científico quanto a sociedade em geral. Na atualidade, observa-se um decréscimo da eficácia de drogas outrora muito potentes, com a emergência de microrganismos resistentes a todos os fármacos disponíveis, aumentando o risco de regressão à era pré-antibiótica, em que muitas pessoas morriam por infecções bacterianas não tratáveis (OLIVEIRA e AIRES, 2016; RIBEIRO, 2016; FERREIRA, 2018).

O desenvolvimento de resistência bacteriana aos antimicrobianos é um fenômeno natural resultante da pressão seletiva exercida pelo uso de antimicrobianos, mas que tem sofrido uma expansão muito acelerada devido à utilização inadequada destes fármacos. Além do mais, existe uma correlação muito clara entre um maior consumo de antimicrobianos e níveis mais elevados de resistência microbiana (LOUREIRO Rui João et al., 2016). A principal rota de emergência de bactérias resistentes ocorre por meio da aquisição de genes de resistência mediada por um conjunto diversificado de elementos genéticos móveis, como plasmídeos, integrons e transposons (RIBEIRO, 2016; FERREIRA, 2018).

É importante salientar que o uso inadequado de antibióticos em atividades como a veterinária, a zootecnia e a pecuária representam um importante fator na emergência e disseminação da resistência bacteriana aos antibióticos (LOUREIRO, Rui João. et al., 2016). A exemplo, na produção animal, os antimicrobianos podem ser utilizados como promotores de crescimento na nutrição animal. Quando são utilizados com esse intuito, proporcionam uma melhora no aproveitamento do alimento pelos animais resultando em melhor desempenho zootécnico. Para que antimicrobianos atuem como promotores de crescimento animal, devem ser incorporados como ingrediente à ração em doses subterapêuticas. Assim, os antimicrobianos permanecem selecionando cepas bacterianas resistentes no lúmen

do trato intestinal dos animais. O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento foi proibido na Suécia desde 1986; depois outros países seguiram o exemplo, e em 2006 os promotores de crescimento foram extintos em toda a União Europeia (BENGTSSON e GREKO, 2014). No Brasil, foram proibidas as classes e/ou substâncias antimicrobianas como promotores de crescimento desde 1998 até 2016: avoparcina (1998); cloranfenicol e nitrofuranos (2003); anfenicóis, tetraciclina, b-lactâmicos, quinolonas e sulfonamidas (2009); eritromicina e espiramicina (2012) e, mais recentemente, a colistina (2016) (BRASIL, 2017).

A maioria das bactérias zoonóticas podem ser potencialmente perigosas para a saúde humana e a resistência antimicrobiana dessas espécies pode aumentar a carga de doenças no homem, devido a uma variedade de mecanismos, como o aumento da frequência, a duração e severidade da infecção. As bactérias comensais podem funcionar como um reservatório de genes de resistência podendo transferir a sua resistência para as bactérias patogênicas (GASTALHO, Soraia; SILVA, Gabriela; RAMOS, Fernando, 2014).

Segundo VIKRAM, Amit et al. (2018) o uso de antimicrobianos na produção animal nos EUA, tornou frequente a ocorrência de mecanismos de resistência entre as bactérias, aumentando o risco da exposição humana a bactérias resistentes aos antimicrobianos através do consumo da carne bovina, visto que, na produção animal o uso intensivo de antimicrobianos é associado a um aumento de resistência bacteriana, que mais tarde pode ser disseminada para a população humana, outros animais e o meio ambiente. E cabe ressaltar que os excrementos dos animais, além de bactérias resistentes, contêm resíduos de antimicrobianos não metabolizados e ativos que geram pressão seletiva sobre a população bacteriana do ambiente onde são depositados e assim, esses excrementos favorecem a seleção de mutações e transferência horizontal de elementos genéticos móveis que contribuem para a sobrevivência e permanência de genótipos bacterianos resistentes no ambiente (GATICA EGUIGUREN e ROJAS, 2018).

As principais vias de exposição humana a bactérias resistentes de produção animal são: o consumo de alimentos de origem animal, o contato direto com animais de fazenda, a poluição ambiental e resíduos aquáticos da produção animal. Além disso, outra pesquisa vinculou o contato direto entre animais e trabalhadores, encontrando os mesmos genes de resistência em ambos os grupos (GATICA EGUIGUREN e ROJAS, 2018) No estudo de Zhang, Zengfeng et al., (2018),

isolados de *Salmonella* recuperados de alimentos, animais e humanos compartilham perfis de DNA semelhantes; o estudo ressalta ainda que estes isolados poderiam se espalhar de alimentos para humanos, de animais para humanos, e de animais para animais através das cadeias de abastecimento de alimentos. E Assim como no estudo SEO, Kwang Won, et al, (2018) isolaram cepas de *e. coli* resistentes às cefalosporinas de terceira geração das amostras carnes de frango, em supermercados da Coreia do sul. Além do mais, ele afirma que as cepas de *e. coli* são comensais em animais e pode servir como um reservatório de genes de resistência que tem potencial para ser transferido para bactérias patogênicas em humanos ou animais.

1.2. Bacilos Gram negativos (BGN)

As bactérias Gram negativas possuem grande diversidade metabólica e morfológica e são reconhecidas por sua importância médica. Filogeneticamente esse grupo de bactérias pertence ao domínio *Bacteria*, filo *Proteobacteria* e possuem diversas características que favoreceram ao longo dos anos a colonização no homem, animais e a permanência no ambiente (RIBEIRO, 2016).

Os principais patógenos Gram negativos relacionados com infecção hospitalar são bactérias pertencentes a dois grandes grupos de bacilos: membros da família *Enterobacteriaceae* como *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* e bacilos Gram-negativos não fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. O número de infecções causadas por bacilos de Gram negativos multirresistentes é cada vez maior. Muitas dessas infecções ocorrem em âmbito hospitalar resultando em um impacto clínico e econômico muito preocupante (; OLIVEIRA, M. E. F.; ARAÚJO, D. G.; OLIVEIRA, S. R., 2011; RIBEIRO, 2016; FERREIRA, 2018).

Enterobacteriaceae constituem uma grande família de bacilos Gram negativos, muitos dos quais são habitantes normais do trato intestinal humano. São caracterizados por serem bactérias anaeróbias facultativas, descritas pela capacidade de reduzir nitrato em nitritos e fermentar a glicose (FERREIRA, 2018). Fazem parte deste grupo *Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp, *Escherichia coli*, *Proteus* spp, *Serratia marcescens*, *Salmonella* spp, e *Citrobacter* spp. que podem ser

patogênicos oportunistas importantes, relacionados a infecções de difícil tratamento, tais como cistite e pielonefrite, septicemia, pneumonia, peritonite, colangite, meningite e vários outros tipos infecções (NORDMANN , Patrice; NAAS, Thierry; POIREL, Laurent., 2011; GASTALHO Soraia; SILVA, Gabriela; RAMOS, Fernando., 2014).

Atualmente, a resistência bacteriana aos antimicrobianos tem se mostrado o principal problema em infecções hospitalares e os BGN, na maioria das vezes, apresentam alta resistência, gerando consequências graves pela falta de opção terapêutica para o tratamento dessas infecções. Os BGN já desenvolveram resistência a muitos dos antimicrobianos disponíveis, incluindo as penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos, tetraciclina, fluoroquinolonas, sulfonamidas e carbapenêmicos (OLIVEIRA, M. E. F.; ARAÚJO, D. G.; OLIVEIRA, S. R., 2011).

1.3. Resistência das enterobactérias aos antimicrobianos β -lactâmicos e as quinolonas

Há várias classes de antimicrobianos que são utilizados para o tratamento de infecções, dentre elas estão os β -lactâmicos. Atualmente, dentre todos os antimicrobianos disponíveis, o grupo dos β -lactâmicos é empregado em aproximadamente 60% das terapias da medicina humana no mundo. A classe de β -lactâmicos é dividida em penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactams. Os β -lactâmicos são drogas de escolha preferencial para tratamento da maioria das infecções bacterianas, por causa de sua eficácia e segurança clínica, em virtude da alta toxicidade seletiva para as bactérias (BUSH e BRADFORD, 2016).

O grupo das cefalosporinas é extenso e está dividido em cinco gerações, dependendo do espectro bacteriano que exibem. Cefotaxima, cefsulodin, ceftazidima, cefoperazona, ceftriaxona e cefixima são pertencentes a terceira geração e a quarta geração (BUSH e BRADFORD, 2016). As primeiras bactérias produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) foram descritas nos anos 80 e estas são resistentes às cefalosporinas de primeira, segunda, terceira e quarta gerações (BUSH, 2010). A resistência aos β -lactâmicos em bactérias Gram-negativas depende principalmente da produção de enzimas β -lactamases (codificadas pelos genes *bla*) e de hiperexpressão de sistemas de efluxo (BUSH e

BRADFORD, 2016).

Enterobacteriaceae ESBL tornaram-se um grande problema de saúde pública em relação às infecções nosocomiais e comunitárias. Nas últimas décadas, o aumento na prevalência de *E. coli* ESBL dentre os isolados clínicos tem causado grande preocupação, pois este mecanismo de resistência implica na falha terapêutica para diversas doenças infecciosas (FERREIRA, 2018).

Em relação aos carbapenêmicos são β -lactâmicos amplo espectro de atividade, e mais eficazes, dada sua facilidade de difusão através de canais de porina da membrana externa das bactérias e elevada estabilidade a hidrólise por β -lactamases. Os carbapenêmicos são reservados para o tratamento de infecções hospitalares graves causadas, muitas vezes, por bactérias ESBL. Atualmente no Brasil estão disponíveis os carbapenêmicos imipenem, meropenem e ertapenem (NORDMANN, Patrice; NAAS, Thierry; POIREL, Laurent., 2011; RIBEIRO, 2016 FERREIRA, 2018).

As fluoroquinolonas foram introduzidas na década de 1980 e a atividade desta classe de antimicrobiano contra microrganismos Gram negativos contribuiu para a frequente indicação para o tratamento de infecções causadas por *E. coli*, *Salmonella spp.* e outras enterobactérias, tanto em humanos como em animais de produção. Entretanto, a ampla utilização das fluoroquinolonas têm contribuído para a seleção de bactérias resistentes (LITERAK, I et al., 2013). As principais fluoroquinolonas utilizadas na produção animal são enrofloxacin e sarafloxacin. Entretanto, já foi observada resistência cruzada entre estas e as fluoroquinolonas utilizadas para infecções humanas, em especial entre a enrofloxacin e a ciprofloxacina que possuem a estrutura química similar (POIREL, L; CATTOIR, V; NORDMANN, P., 2012).

Os mecanismos de resistência às quinolonas podem ter origem cromossômica e/ou plasmidial e consistem em mutações nas enzimas DNA girase e topoisomerase IV que codificam as enzimas alvo das quinolonas, expressão de bombas de efluxo e diminuição da permeabilidade da membrana celular relacionada com a perda de porinas. A disseminação de alguns destes mecanismos de resistência ocorre principalmente por meio de genes carregados por plasmídeos. Sozinhos, estes plasmídeos conferem baixa resistência às fluoroquinolonas, mas podem potencializar os mecanismos de resistência codificados no cromossomo (RODRIGUEZ-MARTINEZ, J. M. et al., 2011; POIREL et al., 2012).

1.4 Uso racional de antimicrobianos na produção animal

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 a qual favorece a emergência de bactérias resistentes (BENGTSSON e GREKO, 2014). 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, aves e bovinos de criadouros, gerando uma alta probabilidade de disseminação de genes de resistência. Isso implica que o uso de antimicrobianos em animais possa vir a ter consequências para a saúde pública, sendo a resistência aos antimicrobianos considerado um problema a nível mundial (RIBEIRO, 2016).

O Brasil ocupa a liderança mundial na exportação de carne de frango e é o terceiro maior produtor de carne aviária do mundo, mas a disseminação de bactérias ESBL em alimentos de origem animal se torna um problema de saúde pública por causa do potencial de transmissão de resistência antimicrobiana aos seres humanos por alimentos contaminados (DECKER; GOMES, 2016).

A Comissão Europeia, nos últimos anos, têm dado importância à utilização prudente e racional de antimicrobianos em animais, não só para salvaguardar a eficácia dos antimicrobianos em medicina veterinária, mas também para evitar o aparecimento e a disseminação de fenótipos resistentes aos antimicrobianos em patógenos zoonóticos, bem como a transmissão entre animais e humanos (GASTALHO, Soraia; SILVA, Gabriela; RAMOS, Fernando, 2014).

2. JUSTIFICATIVA

O uso imprudente de antimicrobianos como fluoroquinolonas e cefalosporinas em animais e humanos intensificou a emergência e transmissão de patógenos bacterianos resistentes. A maior parte da literatura sobre as consequências da emergência e disseminação de bactérias resistentes a antimicrobianos entre os animais estão relacionados aos riscos de transferência para as pessoas, causando, portanto, um impacto potencial na saúde pública. Com isso, a realização de estudos que verifiquem a ocorrência de enterobactérias resistentes a antimicrobianos em amostras de alimentos auxilia na vigilância da resistência antimicrobiana, podendo orientar as políticas de uso racional dos antimicrobianos na medicina veterinária.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

- Verificar a ocorrência de enterobactérias resistentes a antimicrobianos em amostras de carnes de frango resfriadas e expostas ao consumo nos supermercados do Distrito Federal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar enterobactérias fermentadoras de lactose (*E. coli*) e enterobactérias não fermentadoras de lactose (*Salmonella spp.*) de amostras de carnes de frango;
- Determinar o perfil de susceptibilidade antimicrobiana das cepas isoladas.

4. METODOLOGIA

4.1 Coleta, preparo das amostras e análises microbiológicas

No período de 2018 a 2019 foram coletadas de diferentes supermercados do Distrito Federal, 75 amostras de carnes de frango refrigeradas de diferentes cortes (peito, coxa, sobrecoxa, coxinha da asa, entre outros) e essas amostras foram transportadas resfriadas para o laboratório no tempo de 30-50 min. E no prazo máximo de 1 hora, após a coleta, foram iniciadas as análises microbiológicas.

Para o preparo das amostras primeiro foram pesadas 25 gramas de cada amostra, asépticamente, em 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v). O material foi homogeneizado, partindo para a primeira diluição (10^{-1}). A partir da primeira diluição obtiveram-se as demais diluições decimais (até 10^{-3}). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para o isolamento de enterobactérias não fermentadoras de lactose (*Salmonella spp.*), a diluição 10^{-1} das amostras foi incubada em estufa a 36°C (variando aproximadamente 1°C) e após 18 horas de incubação, depois as alíquotas foram transferidas para os caldos seletivos selenito cistina e tetracionato com iodo e incubadas a 37°C por 24 horas. Após a incubação, alíquotas foram transferidas dos caldos seletivos para os meios sólidos: ágar Salmonella Shigella (SS) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), por semeadura em esgotamento. As colônias não fermentadoras de lactose (com ou sem pigmento preto) foram transferidas do SS e do XLD para o meio de cultivo Ágar TSI (três açúcares e ferro) sólido. Os tubos de TSI que apresentaram reações de fundo preto e superfície rosa foram novamente repicadas para os meios SS e XLD e levados para a estufa a 37°C por 24 horas. As colônias puras isoladas do SS e XLD com características de enterobactérias não fermentadoras de lactose foram posteriormente submetidas a testes de susceptibilidade aos antimicrobianos.

Para o isolamento de enterobactérias fermentadoras de lactose (*E. coli*), as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} das amostras foram inoculadas em caldo Lauril Sulfato Triptose, a 37°C por 24 horas. Alíquotas dos tubos positivos no caldo Lauril Sulfato Triptose foram inoculadas em caldo *Escherichia coli* (EC) e incubadas em banho-maria a 45°C por 24 horas. A partir do EC foram inoculadas alíquotas por semeadura em esgotamento no meio sólido Ágar Mac Conkey e as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias puras isoladas do Ágar Mac Conkey

com características de enterobactérias fortemente fermentadoras de lactose (colônias cor de rosa forte) com aspecto secas e pequenas em forma de roscas, foram posteriormente submetidas a testes de sensibilidade aos antimicrobianos.

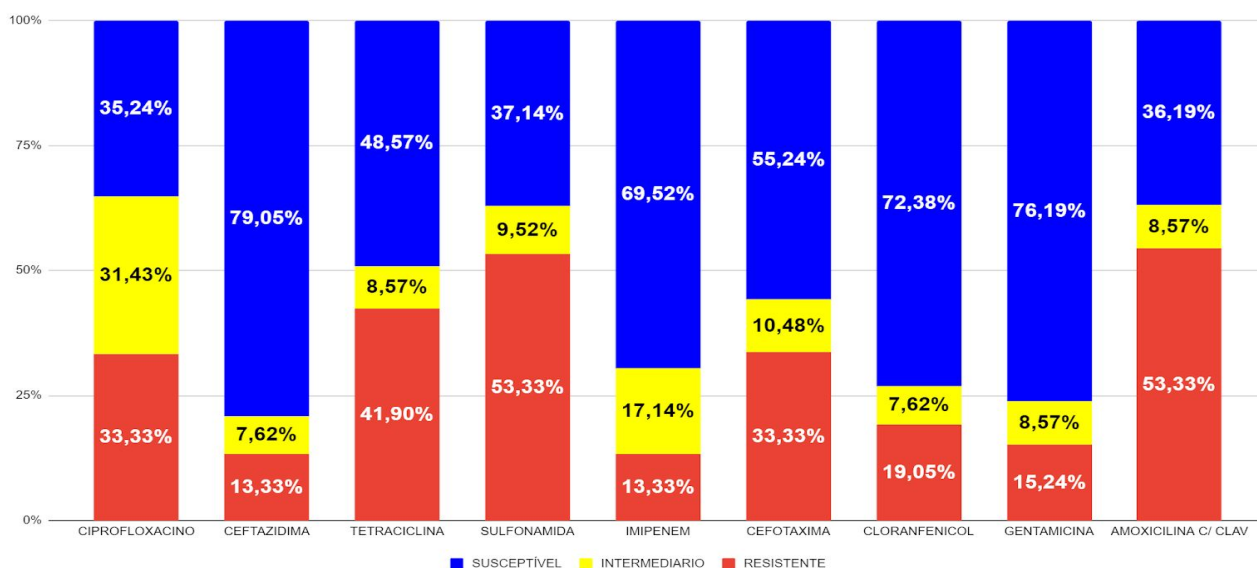
4.2 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

A susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de disco difusão, utilizando protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2013). O método de Kirby e Bauer baseia-se em semear o inóculo em ágar Mueller Hinton, com a turbidez padrão correspondente a 0,5 da escala de Macfarland, então aplicar os discos de antimicrobianos e incubar a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas. As zonas de inibição foram medidas e classificadas como sensível, intermediário e resistente de acordo com recomendações do 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®).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

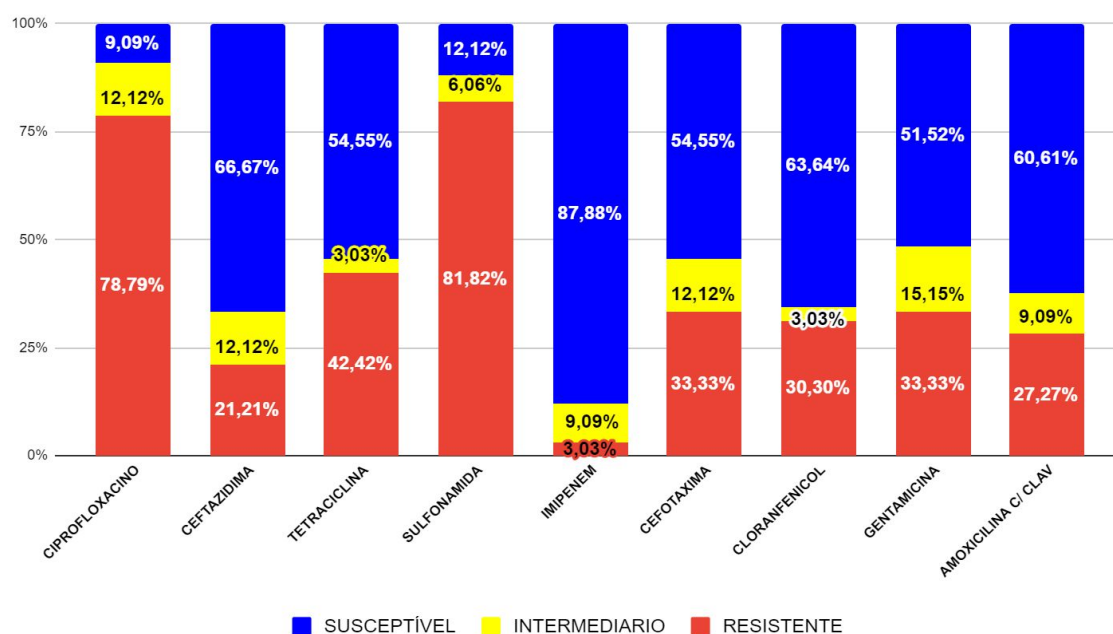
A Figura 1 apresenta o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das 105 cepas de enterobactérias isoladas das 75 amostras de carnes de frango. No presente estudo, as cepas apresentaram maior frequência de resistência à amoxicilina com ácido clavulânico (53,33%), e sulfonamida (53,33%), seguidos da tetraciclina (41,90%). É importante notar que a frequência de resistência ao imipenem alcançou 13,33% dos isolados dado que é um antimicrobiano de uso exclusivo em ambiente hospitalar. Os antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram maior frequência de susceptibilidade foram: ceftazidima (79,05%), gentamicina (76,19%) e cloranfenicol (72,38%).

Figura 1 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de enterobactérias isoladas das amostras de carnes de frango



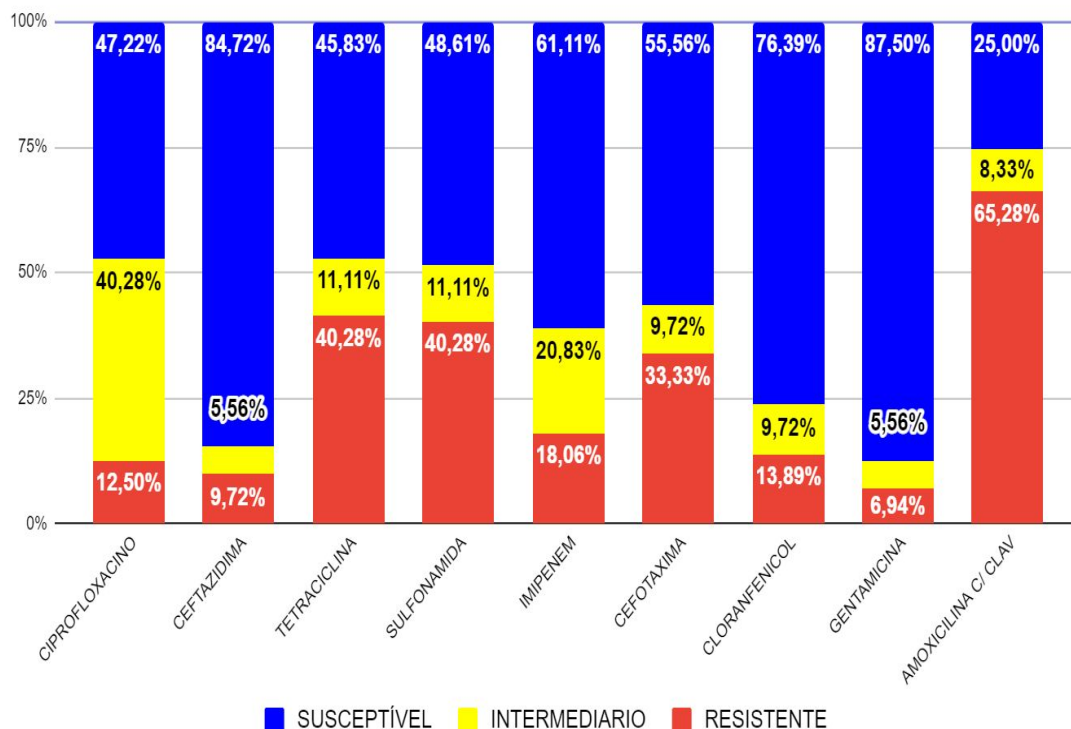
A Figura 2 apresenta o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das 33 cepas de *E. coli* isoladas das amostras de carne de frango. As cepas apresentaram alta frequência de resistência a sulfonamida (81,82%), a ciprofloxacina (78,79%) e a tetraciclina (42,42%). Os antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram maior frequência de susceptibilidade foram imipenem (87,88%), ceftazidima (66,67%), cloranfenicol (63,64%) e amoxicilina com ácido clavulânico (60,61%).

Figura 2 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das 33 cepas de *E. coli* isoladas das amostras de carne de frango



E o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das 72 cepas de *Salmonella spp.* isoladas das amostras de carnes de frango está apresentado na Figura 3. As cepas apresentaram alta frequência de resistência à amoxicilina com ácido clavulânico 65,28% e a tetraciclina e a sulfonamida, ambos com 40,28%. Os antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram frequência de susceptibilidade foram gentamicina 87,50%, ceftazidima 84,72% e cloranfenicol 76,39%.

Figura 3 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das 72 cepas de *Salmonella spp.* isoladas das amostras de frango



Em relação aos β -lactâmicos testados nesse estudo, as enterobactérias apresentaram 53,33% de resistência à amoxicilina com ácido clavulânico, 33,33% de resistência à cefotaxima (cefalosporina de terceira geração), 13,33% de resistência a ceftazidima (cefalosporina terceira geração) e 13,33% de resistência a imipenem (carbapenem) (Figura 1). As cepas de *Salmonella spp.* teve alta frequência de resistência a amoxicilina com ácido clavulânico (65,28%) do que as cepas de *E. coli* (27,27%).

No estudo de Galindo-Méndez (2019), de 18 cepas isoladas de carne de frango, 12 cepas (66,7%) foram positivas para o gene de ESBL *bla*_{CTX-M} e as enzimas CTX-M têm a propriedade de hidrolisar a cefotaxima. Algumas partes do mundo relatam que 60% das cepas *E. coli* e *K. pneumoniae* são resistentes a importantes β lactâmicos hospitalares, como cefalosporinas de terceira geração (IREDELL; J.; BROWN, J.; TAGG, K, 2016). No estudo de Ye, Q. et al. (2018), de 1024 enterobactérias isoladas de carne crua, frutos do mar, vegetais crus, alimentos prontos para consumo, alimentos congelados e cogumelos de 2011 a 2014 na China, 26% das cepas apresentaram resistência a amoxicilina com ácido

clavulânico, 16% das cepas apresentaram resistência à cefotaxima e/ou ceftazidima e 5,2% das cepas apresentaram resistência à imipenem. A análise da reação em cadeia da polimerase mostrou que, dentre os genes de ESBL, *bla*_{TEM} (81,9%) foi o gene mais comum, seguido por *bla*_{CTX-M} (68,1%) e *bla*_{SHV} (38,9%). Estes achados demonstraram que os alimentos podem ser reservatórios para a disseminação de genes de resistência a β-lactâmicos e que a carne de frango foi o alimento de onde se isolaram mais cepas *Enterobacteriaceae* ESBL.

As enterobactérias deste estudo apresentaram elevada frequência de resistência a sulfonamida (53,33%). As cepas de *E. coli* foram muito mais resistentes a sulfonamida (81,82%) do que as cepas de *Salmonella spp.* (40,28%). No estudo de Yassin, A. K. et al. (2017), com 644 cepas de *E. coli* extra intestinais 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.

A resistência dos bacilos Gram negativos às sulfonamidas geralmente vem da aquisição dos genes *sul1*, *sul2* ou *sul3*. No trabalho de Soufi, L et al. (2011), 82% das 166 cepas de *E. coli* testadas mostraram resistência à sulfonamida, sendo que 50% das cepas apresentaram o gene *sul1*, 48,5% das cepas apresentaram o gene *sul2* e 33,8% das cepas apresentaram o gene *sul3*. A presença de 2 genes *sul* na mesma cepa foi detectado em 42% das amostras e somente 8,8% das amostras apresentaram os 3 genes *sul*.

As enterobactérias deste estudo apresentaram 48,57% de resistência à tetraciclina. Ambas as cepas de *E. coli* (42,42%) e de *Salmonella spp.* (40,28%) apresentaram perfil parecido de resistência à tetraciclina. De acordo com Ljubojević et al. (2017), as tetraciclinas 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 frequência de 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 com a aquisição de determinantes genéticos de resistência a tetraciclinas, o que contribuiu para a ampla distribuição destas cepas resistentes em animais como reservatório, independentemente do tipo de produção e do uso de antimicrobianos na criação.

Lapierre et al. (2010) investigaram os genes de resistência à tetraciclina em cepas de *Salmonella spp.* isoladas de suínos. Foi reportado que 96,4% dos isolados de *Salmonella spp.* foram resistentes à tetraciclina e foi achado o gene *tetA* em 15,4% dos isolados e o gene *tetB* em 60,0%. Koo e Woo (2011) coletaram 55 cepas de *E. coli* resistentes à tetraciclina de amostras de frango na Coreia. Foi encontrado o gene *tetA* em 26,4% dos isolados, o gene *tetB* em 17,4%, o gene *tetC* em 0,8%, o gene *tetD* em 0,8% e os genes *tetA* e *tetB* juntos em 0,8% dos isolados.

No Brasil, o uso dos antimicrobianos sulfonamida e tetraciclina com finalidade de aditivo melhorador de desempenho está proibido (BRASIL, 2017). No entanto, de acordo com Gonçalves e Andreatti Filho (2010) o uso abusivo desses antimicrobianos como promotores de crescimento ou como conservantes de alimentos para animais até 1998 certamente contribuiu para gerar a resistência dos microrganismos a esses antimicrobianos.

Nesse estudo 64,76% das enterobactérias foram resistentes ou intermediárias ao antimicrobiano ciprofloxacina. As cepas de *E. coli* deste estudo foram notavelmente resistentes à ciprofloxacina (78,79%). Em relação às cepas de *Salmonella* a resistência ou resistência intermediária à ciprofloxacina foi de 52,78%. Mohamed, M. A.; SHEHATA, M. A.; RAFEEK, E. (2014) encontraram elevada taxa de resistência à enrofloxacin (antimicrobiano da classe das quinolonas) 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 enrofloxacin (média de 38,7%). A resistência das cepas às quinolonas como ácido nalidíxico, ciprofloxacina e enrofloxacin provavelmente se deve ao uso excessivo dessa classe de antimicrobianos 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, L; CATTOIR, V.; NORDMANN, P., 2012). O estudo de LI, Jun et al. (2019), mostrou que o tratamento

com enrofloxacin de infecções por *Salmonella spp.* em frango selecionou cepas de *E. coli* multirresistentes no intestino desses frangos. Os autores mostraram que a multirresistência a fluoroquinolonas, β -lactâmicos e tetraciclina ocorreu nas cepas de *E. coli* comensais de galinhas saudáveis após serem oralmente tratadas com enrofloxacin ou amoxicilina.

Nota-se que o padrão de resistência foi diferente entre as cepas de *E. coli* e de *Salmonella spp.*, sendo-se que *E. coli* foi mais resistente a ciprofloxacina e *Salmonella spp.* mostrou elevada resistência à amoxicilina com ácido clavulânico. No estudo de CARD *et al.* (2017), foi simulado um modelo para demonstrar a transferência de plasmídeos com resistência a múltiplas drogas de *Salmonella spp.* para *E. coli* comensal residente em ceco de frango saudável. Este modelo pode possivelmente replicar o cenário na fazenda e aqueles encontrados em outros animais ou até mesmo no intestino humano. As cepas de *E. coli* eram susceptíveis a cefotaxima, e após a inoculação com as cepas de *Salmonella spp.* resistentes, notou-se que as cepas de *E. coli* adquiriram resistência a cefotaxima. Neste estudo relatou-se uma frequência de resistência parecida para tetraciclina em *E. coli* (42,42%) e *Salmonella spp.* (40,28%) e para a cefotaxima em *E. coli* e *Salmonella spp.* (ambas com 33,33%).

Neste estudo, das 33 cepas de *E. coli* testadas, apenas 1 cepa (3,0%) mostrou-se sensível a todos os antimicrobianos testados, 14 cepas (42,5%) apresentaram-se resistentes a um ou dois tipos de antimicrobianos e 18 cepas (54,6%) classificaram-se como multirresistentes, isto é, cepas resistentes a três classes de antimicrobianos ou mais, sendo que 9 cepas (27,3%) apresentaram multirresistência a 5 ou 6 dos 9 antimicrobianos testados (Tabela 1).

Tabela 1 - Número de cepas de *E. coli* isoladas das amostras de carnes de frango com resistência aos antimicrobianos testados

Número de cepas	Cepas (%) *	Números de antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram resistência
1	3,0%	0
14	42,4%	1 ou 2
4	12,1%	3
5	15,2%	4

4	12,1%	5
5	15,2%	6
33	100%	Total

* % = porcentagem em relação ao total de 33 cepas

Neste estudo, das 72 cepas de *Salmonella spp.* testadas, apenas 4 cepas (5,6%) mostraram-se sensíveis a todos os antimicrobianos testados, 40 cepas (55,5%) apresentaram-se resistentes a um ou dois tipos de antimicrobianos e 28 cepas (38,9%) classificaram-se como multirresistentes, isto é, cepas resistentes a três classes de antimicrobianos ou mais, sendo que 8 cepas (11,1%) apresentaram multirresistência a 5 ou 6 dos 9 antimicrobianos testados (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de cepas de *Salmonella spp.* isoladas das amostras de carnes de frango com resistência aos antimicrobianos testados

Número de cepas	Cepas (%)	Números de antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram resistência
4	5,6%	0
40	55,5%	1 ou 2
13	18,0%	3
7	9,7%	4
5	7,0%	5
3	4,2%	6
72	100%	Total

* % = porcentagem em relação ao total de 72 cepas

A literatura revela uma crescente presença de bactérias com múltipla resistência a agentes antimicrobianos. No estudo de SILVA, Carolina Janelli.; TEJADA, Talita Schneid.; TIMM, Cláudio Dias (2014), das 20 amostras de *Salmonella spp.* analisadas, 10 (50%) apresentaram multirresistência. Já no estudo feito por Perin (2017), de 98 isolados de *Salmonella spp.*, 85 cepas (86,7%) mostraram-se multirresistentes.

A *Salmonella spp.* é um patógeno altamente adaptável, por isso pode estar presente nos produtos de origem animal e vegetal em nível mundial. O uso

indiscriminado de antimicrobianos na avicultura exerce uma pressão seletiva, tornando assim mais fácil as cepas de *Salmonella spp.* resistentes sobreviverem e serem transmitidas para os humanos por meio do consumo de alimentos. 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 à saúde (PERIN, 2017).

6. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo envolvendo 105 cepas de enterobactérias isoladas das 75 amostras de carnes de frango foi detectada alta frequência de resistência à amoxicilina com ácido clavulânico (53,33%), à sulfonamida (53,33%) e à tetraciclina (41,90%). A emergência de resistência bacteriana tem sido um incentivo para banir o uso de antimicrobianos como promotores de crescimento na produção animal em muitos países, incluindo medidas alternativas para manter o bem estar dos animais sem uso de antimicrobianos. A vigilância rigorosa de resistência antimicrobiana em bactérias presentes nos alimentos deve ser estabelecida como uma prioridade e o estabelecimento de programas para o uso racional de antimicrobianos é uma necessidade importante em todo o mundo.

7. 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.

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

BUSH, Karen; BRADFORD, Patricia. Beta-Lactams and beta-Lactamase Inhibitors: An Overview. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 6, p. 1-22, 2016.

BUSH, Karen. Alarming beta-lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 13, n. 5, p.558- 564, 2010.

CARD, Roderick M. et al. An in vitro chicken gut model demonstrates transfer of a multidrug resistance plasmid from *Salmonella* to commensal *Escherichia coli*. **MBio**, v. 8, n. 4, 2017.

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

DECKER, Sérgio Renato Ferreira; GOMES, Mario Conill. Análise do desempenho e participação da agricultura familiar na avicultura de corte na região sul do Rio Grande do Sul/Brasil. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 6, n. 1, 2016.

FERREIRA, Joseane Cristina. **Caracterização fenotípica e molecular de enterobactérias resistentes a antimicrobianos isoladas de aves comerciais de granjas do interior do Estado de São Paulo**. 2018. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

GALINDO-MÉNDEZ, M. Reservoirs of CTX-M extended spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Oaxaca, Mexico. **Journal of Microbiology & Experimentation**, v. 7, n. 1, p. 43-47, 2019.

GASTALHO, Soraia; SILVA, Gabriela; RAMOS, Fernando. Uso de antibióticos em aquicultura e resistência bacteriana: impacto em saúde pública. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 3, n. 1, p. 29-45, 2014.

GATICA EGUIGUREN, María de los Angeles; ROJAS, Hernán. Gestión sanitaria y resistencia a los antimicrobianos en animales de producción. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, v. 35, p. 118-125, 2018.

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.

IREDELL, J.; BROWN, J.; TAGG, K. Antibiotic resistance in *Enterobacteriaceae*: mechanisms and clinical implications. **BMJ**, v. 352, p.1-19, 2016.

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

KOO, H.J., WOO, G.J. Distribution and transferability of tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli* isolated from meat and meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, n. 2, p. 407-41, 2011.

LAPIERRE, L.; SAN MARTÍN, B.; ARAYA-JORDÁN, C.; BORIE, C. Comparison of integron-linked antibiotic resistance genes in strains of *Salmonella* spp. isolated from swine in Chile in 2005 and 2008. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 56, p. 515–521, 2010.

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

LITERAK, I. et al. Broilers as a source of quinolone-resistant and extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in the Czech Republic. **Microbial Drug Resistance**, v. 19, n. 1, p. 57-63, 2013.

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.

LOUREIRO, Rui João et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.

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

NORDMANN, Patrice; NAAS, Thierry; POIREL, Laurent. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 10, p. 1791, 2011.

OLIVEIRA, Rita; AIRES, Teresa. Resistência aos antibacterianos. **Gazeta Médica**, v. 3., n. 2, p. 14-21, 2016.

OLIVEIRA, M. E. F.; ARAÚJO, D. G.; OLIVEIRA, S. R. Resistência de bacilos Gram-negativos não fermentadores isolados de hemoculturas de um hospital de emergência. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 5, p. 529-34, 2011.

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

RIBEIRO, Sthefanie da Silva. **Padronização de PCR em tempo real para detecção de carbapenemases dos tipos KPC E NDM produzidas por bactérias gram-negativas**, Dissertação de Mestrado em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, J. M. et al. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 17, n. 2, p. 149-82, 2011.

SEO, Kwang Won et al. Comparative genetic characterization of third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* from chicken meat produced by integrated broiler operations in South Korea. **Poultry science**, v. 97, n. 8, p. 2871-2879, 2018.

SILVA, Carolina Janelli.; TEJADA, Talita Schneid.; TIMM, Cláudio Dias. Resistência de *Salmonella* isoladas de humanos e de frangos a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.8, n.4, p. 120-131, 2014.

SOUFI, L. et al. *Escherichia coli* of poultry food origin as reservoir of sulphonamide resistance genes and integrons. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, p. 497–502, 2011.

VIKRAM, Amit et al. Similar levels of antimicrobial resistance in U.S. food service ground beef products with and without a “raised without antibiotics” claim. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 12, p. 2007-2018, 2018.

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

YE, Q. et al. Characterization of extended-Spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from retail food in China. **Frontiers in Microbiology**.v.9, p. 1709, 2018.

ZHANG, Zengfeng et al. Comparative study on antibiotic resistance and DNA profiles of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated from humans, retail foods, and the environment in Shanghai, China. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 8, p. 481-488, 2018.

8.ANEXOS

Anexo 1 – Interpretação das zonas de inibição para enterobactérias

Antimicrobianos testados	HALO R	HALO I	HALO S
Amoxicilina/Ac. Clavulânico AMC 30(20/10)	< 13	14-17	> 18
Cefotaxima CTX 30	< 22	23-25	> 26
Ceftazidima CAZ 30	< 17	18-20	> 21
Imipenem IPM 10	< 19	20-22	> 23
Ciprofloxacina (<i>Salmonella</i>) CIP 05	< 20	21-30	> 31
Ciprofloxacina *4 CIP 05	< 21	22-25	> 26
Gentamicina GEN 10	< 12	13-14	> 15
Cloranfenicol CLO 30	< 12	13-17	> 18
Sulfonamidas SUL 300	< 12	13-16	> 17
Tetraciclina TET 30	< 11	12-14	> 15

HALO R = halo resistente, HALO I = halo intermediário, HALO S = halo sensível

Fonte: Bula de Bancada – Edição CLSI 2020 - Antibiograma – Interpretação das zonas de inibição e concentração inibitória mínima.