

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

WILLEN LUCAS BARBOSA DE URSINO

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

BRASÍLIA, DF - 2021

WILLEN LUCAS BARBOSA DE URSINO

**Perfil de susceptibilidade 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

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

BRASÍLIA, DF - 2021

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

Up

Ursino, Willen Lucas Barbosa de
Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de bactérias
Escherichia coli isoladas de carnes de frango
comercializadas no Distrito Federal / Willen Lucas Barbosa
de Ursino; orientador Daniela Castilho Orsi. -- Brasília,
2021.

39 p.

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

1. Microbiologia de alimentos. 2. Escherichia coli. 3.
Perfil de Susceptibilidade Antimicrobiana. 4. Carne de
Frango. I. Orsi, Daniela Castilho, orient. II. Título.

WILLEN LUCAS BARBOSA DE URSINO

**Perfil de susceptibilidade 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 Especialista Letícia Fernandes Silva Rodrigues
(FCE/ Universidade de Brasília)

Mestre Sabrina Lunara Santos Pavelquesi
(FCE/ Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, DF - 2021

Dedico este trabalho ao Dono da minha existência, que não só me abriu todas as oportunidades, como também me sustentou através delas, fazendo-me mover montanhas diariamente com a fé, sem importar o tamanho dos obstáculos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Senhor Deus e Salvador, que me concedeu a vida e uma esperança que não tem fim, esperança tal que não se restringe a esta curta existência, mas se estende pela eternidade.

A meus pais, que me ensinaram todos os bons princípios da vida, assim como a defender e manter minha fé num ambiente onde não há, declaradamente, muito espaço para Deus.

A toda a minha família pelo apoio incondicional e por não terem me permitido desistir, ainda que por vezes estive terrivelmente tentado a tal.

A minha amada noiva Ana Karina, companheira sempiterna de vida, cuja força e positividade são tão intensas que contagiam os que estão em redor, e claro, que me contagiou e muitas vezes me ajudou a levantar a cabeça para continuar a jornada, mesmo quando a tristeza e a decepção me incentivavam a abdicar do meu propósito. Ela que sempre me instigou a ser melhor do que eu pensava ser possível me tornar. Amo-te com todo o vigor que há em mim!

A minha querida orientadora, Daniela Orsi, para mim insubstituível, que me ensinou a lidar com a rotina cansativa, mas intensamente prazerosa da pesquisa de bancada. Obrigado por ter me ajudado a me encontrar nesse universo tão vasto que é a farmácia. Para mim, a senhora é um exemplo de paciência infinita.

A todos os amigos, familiares e professores que sempre acreditaram em mim muito mais do que eu mesmo acreditava. Sempre pude ver nos seus olhos o brilho de fé que vocês depositaram em mim e na minha capacidade. A pressão foi grande, mas creio não os ter decepcionado (riso).

A todos os professores e colegas, dos quais tirei os mais diversos ensinamentos para a vida profissional e pessoal, aos quais devo todos os meus conhecimentos técnicos e inteligência emocional. Choramos juntos, rimos juntos, vencemos juntos todos os obstáculos.

A todos, meu muito obrigado!

RESUMO

Na criação avícola, a bactéria *Escherichia coli* causa a colibacilose, a qual é uma razão de considerável perda econômica em nível mundial por causar elevada mortalidade das aves. Para diminuir o prejuízo, é comum a prática do uso irracional e abusivo de antimicrobianos nos criadouros de aves, o que tem levado ao desenvolvimento de resistência antimicrobiana. Desta maneira, este estudo teve por objetivo quantificar os coliformes termotolerantes presentes em carnes de frango resfriadas comercializadas no Distrito Federal e isolar cepas de *E. coli* das amostras, com posterior avaliação da sua resistência antimicrobiana. Foram analisadas 18 amostras de carne de frango resfriadas de diferentes cortes. 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 Ágar MacConkey. A susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de disco difusão (técnica de Kirby-Bauer). No presente estudo, todas as 18 amostras de carne de frango apresentaram coliformes termotolerantes, porém a quantidade estava dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira ($<5,0 \times 10^3$ NMP/g). Foram isoladas 39 cepas de *E. coli* de 15 das 18 amostras (83,3%) e observou-se que essas apresentaram mais resistência a ciprofloxacina (69%), sulfonamida (66%) e tetraciclina (51%), sendo que 66% das cepas foram multirresistentes, isto é, apresentam resistência a três classes de antimicrobianos ou mais. Houve pouca resistência ao cloranfenicol (18% das cepas) e não houve resistência ao imipenem. Conclui-se que embora a quantidade de coliformes termotolerantes nas amostras de carne de frango comercializadas no Distrito Federal tenha sido aceitável de acordo com a legislação brasileira, as cepas de *E. coli* presentes evidenciaram elevada resistência a antimicrobianos que são utilizados tanto na medicina veterinária quanto na medicina humana. Desta forma, é necessário que se desenvolvam políticas de restrição do uso de antimicrobianos na criação animal no Brasil, para reverter o desenvolvimento da resistência antimicrobiana.

Palavras-chave: colibacilose, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, multirresistência, resistência antimicrobiana, susceptibilidade a antimicrobianos.

ABSTRACT

In poultry farming, the *Escherichia coli* bacteria cause colibacillosis, which is a reason for considerable economic loss worldwide because it causes high mortality of chickens. To reduce the loss, it is common to practice the irrational and abusive use of antimicrobials in poultry farms, which has led to the development of antimicrobial resistance. Thus, this study aimed to quantify the thermotolerant coliforms present in chilled chicken meat sold in the Federal District and to isolate strains of *E. coli*, with further evaluation of their antimicrobial resistance. For this, 18 samples of chilled chicken meat of different cuts were analyzed. For the determination of thermotolerant coliforms, samples were inoculated in Lauril Sulfate Tryptose broth, at 37°C for 24 h. Aliquots of positive tubes were inoculated into *Escherichia coli* (EC) broth in a water bath at 45°C for 24 h. From EC broth, strains of *E. coli* were isolated on MacConkey Agar. The susceptibility of the strains to antimicrobials was evaluated using the disk diffusion technique (Kirby-Bauer technique). In the present study, all 18 chicken meat samples had thermotolerant coliforms, but the amount was within the limit established by Brazilian legislation ($<5.0 \times 10^3$ NMP/g). Therefore, 39 strains of *E. coli* were isolated from 15 of the 18 samples (83.3%) and it was observed that these were more resistant to ciprofloxacin (69%), sulfonamide (66%) and tetracycline (51%), and that 66% of the strains were multiresistant, that is, resistant to three classes of antimicrobials or more. There was low resistance to chloramphenicol (18% of the strains) and there was no resistance to imipenem. It is concluded that although the amount of thermotolerant coliforms in chicken meat has been acceptable according to Brazilian legislation, the *E. coli* strains present showed high resistance to antimicrobials that are used both in veterinary medicine and in human medicine. Thus, it is necessary to develop policies to restrict the use of antimicrobials in animal husbandry in Brazil, to reduce the development of antimicrobial resistance.

Keywords: colibacillosis, thermotolerant coliforms, *Escherichia coli*, multidrug resistance, antimicrobial resistance, antimicrobial susceptibility.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias *E. coli* isoladas das amostras de carne de frango (porcentagem com base em 39 cepas) 29**
- Figura 2. Porcentagem de cepas de *E. coli* isoladas de carne de frango em relação a resistência e multirresistência aos antimicrobianos..... 31**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantificação de coliformes termotolerantes nas amostras de carne de frango.....	28
Tabela 2. Perfis de multirresistência antimicrobiana das cepas de <i>E. coli</i> isoladas das amostras de carnes de frango.....	33

SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
2. Revisão da literatura.....	12
2.1. Bactéria <i>Escherichia coli</i>	12
2.2. Colibacilose aviária.....	16
2.3. Resistência antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i> isolada de carne de frango.....	17
3. Objetivos.....	22
3.1. Objetivo geral.....	22
3.2. Objetivos específicos.....	22
4. Justificativa.....	23
5. Materiais e métodos.....	24
5.1. Coleta das amostras.....	24
5.2. Análises microbiológicas.....	24
5.3. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos.....	24
6. Resultados e discussão.....	26
7. Conclusão.....	34
8. Referências Bibliográficas.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMC = Amoxicilina com ácido clavulânico;

ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

APEC = *E. coli* patogênica aviária;

Caldo EC = Caldo *Escherichia coli*;

CAZ = Ceftazidima;

CIP = Ciprofloxacina;

CIPARS = Programa Integrado Canadense para Vigilância da Resistência Antimicrobiana;

CLO = Cloranfenicol;

CLSI = *Clinical and Laboratory Standards Institute*;

CTX = Cefotaxima;

DAEC = *E. coli* de adesão difusa;

DTA = Doenças Transmitidas por Alimentos;

DRC = Doença Respiratória Crônica;

EAEC = *E. coli* enteroagregativa;

EHEC = *E. coli* enterohemorrágica;

EIEC = *E. coli* enteroinvasiva;

EPEC = *E. coli* enteropatogênica;

ETEC = *E. coli* Enterotoxigênica;

E. coli = *Escherichia coli*;

GEN = Gentamicina;

IMP = Imipenem;

NARMS = Sistema Nacional de Monitoramento de Resistência Antimicrobiana dos Estados Unidos;

NMP = Número Mais Provável;

OCDE = Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico;

SUL = Sulfonamida;

TET = Tetraciclina.

1. Introdução

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria pertencente à família *Enterobacteriaceae*, sendo um bacilo curto, gram-negativo, anaeróbio facultativo, catalase-positivo, oxidase-negativo, sendo que muitas das bactérias isoladas fermentam a lactose. É também flagelada e não esporulante (FORSYTHE, 2013). O gênero *Escherichia* foi nomeado em homenagem ao pediatra alemão Theodor Escherich (GOMES et al., 2016, *apud* EWING, 1986). Já a palavra -coli é utilizada em termos que se referem ao intestino grosso, tendo referências do grego kólon (intestino grosso) e do latim colu- (cólon) (COLI, 2021).

Escherichia coli é provavelmente um dos organismos mais conhecidos na microbiologia. Muito se sabe a respeito de sua bioquímica e de sua genética. Esta é uma das espécies bacterianas mais presentes no intestino de humanos e de animais de sangue quente (TORTORA, DERRICKSON, 2012; FORSYTHE, 2013). Embora sejam normalmente inofensivas, algumas cepas que adquiriram fatores de virulência específicos são patogênicas, podendo causar distúrbios gastrintestinais, as chamadas gastroenterites causadas por *E. coli* (TORTORA, DERRICKSON, 2012). Há linhagens importantes de *E. coli* patogênicas, cada qual com seu mecanismo próprio patogênico, como a *E. coli* Enterotoxigênica (ETEC), a *E. coli* enteroagregativa (EAEC), a *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) e a *E. coli* enteropatogênica (EPEC) (TORTORA, DERRICKSON, 2012).

Nas aves, a principal linhagem causadora de doenças é a *E. coli* patogênica aviária (APEC). A APEC causa a chamada colibacilose, a qual consiste numa infecção por *E. coli* que pode ser tanto sistêmica quanto localizada e que resulta em diversos sintomas. Geralmente causa infecção do trato respiratório ou septicemia. A colibacilose tem relevância mundial, pois é uma das maiores causas de perdas econômicas na criação de aves comerciais, pois além de causar a mortalidade dos animais, acaba por condenar as carcaças das aves nos matadouros, sem contar com o aumento nos custos de criação pela implantação de estratégias para o tratamento das aves (BRAGA, ECCO, MARTINS, 2015).

Para tratar a colibacilose, os criadores utilizam antimicrobianos, entretanto, seu uso abusivo pode fazer com que essas aves portem bactérias multirresistentes. Um risco preocupante da presença de resistência antimicrobiana em cepas de *E. coli* nas aves é a transmissão dessas bactérias resistentes, ou até dos plasmídeos que contém

genes de resistência para os seres humanos, através do consumo da carne contaminada ou então do contato de trabalhadores na cadeia de produção (SABATÉ et al., 2008). Isto torna a questão um importante assunto em saúde pública. Portanto, são de extrema relevância os estudos que testam a susceptibilidade antimicrobiana de bactérias presentes em carnes de aves comercializadas, a fim de contribuir para a vigilância da resistência antimicrobiana.

2. Revisão da literatura

2.1. Bactéria *Escherichia coli*

Escherichia coli faz parte da família *Enterobacteriaceae* e é uma bactéria comensal do trato intestinal de humanos e de animais de sangue quente. Isto quer dizer que a maioria dos sorotipos de *E. coli* não são patogênicos e fazem parte da microflora natural destes. Entretanto, ao adquirir fatores de virulência, cepas de *E. coli* se tornam potencialmente patogênicas. Poucas horas depois de ter nascido, o trato gastrointestinal do bebê já é colonizado por *E. coli*, a qual desempenha um papel muito importante na produção intestinal de vitamina B e sua multiplicação no intestino impede que outras populações de bactérias nocivas se multipliquem (FORSYTHE, 2013).

Escherichia coli é uma bactéria importante do ponto de vista sanitário, pois, por ser parte da microflora intestinal natural do ser humano e outros animais de sangue quente, é utilizada como microrganismo indicador de contaminação fecal (FORSYTHE, 2013). A Portaria Nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde estabelece procedimentos que devem ser adotados no controle de qualidade da água destinada ao consumo humano e define seu padrão de potabilidade. Nas análises obrigatórias, o nível de potabilidade é estabelecido, entre outras variáveis, pela quantidade de coliformes totais presentes na água, assim como análises específicas para *E. coli*, indicando a contaminação fecal da água analisada (BRASIL, 2011). É importante salientar que o Decreto Nº 5.440/2005 estabelece que as informações sobre as análises de qualidade da água devem ser disponibilizadas ao consumidor mensalmente nas contas de água, tornando assim possível que todo cidadão possa acompanhar a evolução da qualidade da água que consome (BRASIL, 2005).

Em relação aos coliformes totais e termotolerantes ou fecais, o primeiro grupo é constituído por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, fermentadores de lactose com produção de gás quando incubados a 35-37°C por 24-48 horas. Fazem parte desse grupo predominantemente bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Dentre estas, somente o gênero *Escherichia* coloniza primariamente o trato intestinal do homem e animais de sangue quente. Os demais, além das fezes, podem ser encontrados na vegetação e no solo. Portanto, a presença de coliformes totais na água e nos alimentos não indica, obrigatoriamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos. Já os coliformes termotolerantes fermentam lactose com produção de gás quando incubados a temperaturas entre 44-45°C e são bastante utilizados como parâmetro microbiológico quando se quer determinar a presença de contaminação fecal (FERREIRA et. al., 2014).

Com relação à segurança dos alimentos, a ideia é a mesma: a presença de coliformes termotolerantes no alimento indica sua contaminação fecal. Deve-se ressaltar aqui que a mera presença de coliformes termotolerantes não inviabiliza o consumo do alimento. Entretanto, existe um limite máximo permitido para garantir a segurança da ingestão deste. Se houver mais do que o permitido, os alimentos não estarão próprios para consumo. A Instrução Normativa nº 60 de 2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece os padrões microbiológicos para alimentos e é utilizada para determinar a segurança de seu consumo. Para a quantificação de *E. Coli* na carne de frango, a legislação estabelece o limite de $5,0 \times 10^3$ NMP/g (BRASIL, 2019).

Escherichia coli é uma das bactérias mais bem conhecidas na microbiologia (TORTORA, DERRICKSON, 2012). Ela é um bacilo gram-negativo, anaeróbio facultativo. É geralmente móvel, pela presença de flagelos peritríquios. Ao analisar a velocidade de locomoção de *E. coli* expressa em comprimento corporal percorrido por segundo, viu-se que ela se locomove mais rápido do que a maioria dos microrganismos considerados mais velozes na natureza. Ela é apenas dez vezes mais lenta que o organismo mais rápido da terra já descoberto até agora, a arqueia *Methanocaldococcus*, que se move cerca de 500 comprimentos celulares por segundo (MADIGAN et al., 2016). A temperatura ótima de crescimento da *E. coli*, para a maior parte das linhagens, é de 39°C (a mínima é de 8°C e a máxima é de 48°C) e por esta razão é classificada como mesófila. A maior parte das linhagens de *E. coli* fermentam

a lactose. Nos testes bioquímicos, *E. coli* é catalase-positiva e oxidase-negativa (FORSYTHE, 2013; MADIGAN et al., 2016).

Escherichia coli possui um DNA circular que possui aproximadamente 4.640.000 de pares de base, totalizando um comprimento de 1,58 mm. Comparando com o tamanho médio da *E. coli* de 2 micrômetros, o material genético é mais de cem vezes maior que a célula, mas sua capacidade de compactação faz possível que o cromossomo caiba dentro da célula. De todos esses pares de base, estima-se que há aproximadamente 4.290 genes que codificam proteínas e estes correspondem a 88% de todo o material genético (MADIGAN et al., 2016; TORTORA, DERRICKSON, 2012).

Além do cromossomo, é comum encontrar um outro elemento genético nas cepas de *E. coli*, o chamado plasmídeo, o qual consiste na maioria das vezes numa dupla fita de DNA circular livre na célula que é muito menor que o cromossomo, consistindo em apenas 5% do seu tamanho. Só na *E. coli*, são descritos mais de 300 tipos de plasmídeos de origem natural. O estudo dos plasmídeos é muito importante, dado o fato de que os plasmídeos de resistência podem conferir à *E. coli*, assim como a outras bactérias, a capacidade de resistir aos efeitos de agentes antimicrobianos e é um ponto chave para compreender a multirresistência antimicrobiana, um fenômeno emergente mundial (MADIGAN et al., 2016; TORTORA, DERRICKSON, 2012).

A *Escherichia coli* é classificada em sorogrupos e sorotipos, baseando-se nos tipos de antígeno que a linhagem apresenta. O antígeno 'O' designa o sorogrupo da *E. coli* e consiste na presença de lipopolissacarídeos na célula, havendo 174 antígenos 'O' diferentes. Já o antígeno 'H' designa o sorotipo da *E. coli* dentro de um sorogrupo e consiste na presença de flagelos na célula, havendo 53 tipos de antígenos flagelares. Sabendo disso, pode-se classificar o sorogrupo da *E. coli* de acordo com o número do antígeno 'O' (*E. coli* O157, por exemplo) e o sorotipo com o número do antígeno 'H' (H7, por exemplo). A classificação se dá pela combinação do sorogrupo com o sorotipo separados por dois pontos (:) para designar uma cepa específica. Por exemplo, *E. coli* produtora da toxina Shiga é classificada como *E. coli* O157:H7. É importante ressaltar que dentro de um sorogrupo pode haver mais de um sorotipo, por exemplo, no sorogrupo O111, há o sorotipo O111:H4 e o O111:H12, entre outros (BHUNIA, 2008).

Como já mencionado neste trabalho, a maioria das linhagens de *E. coli* são inofensivas, porém há linhagens patogênicas, as quais desenvolveram mecanismos

nocivos por terem adquirido certos fatores de virulência, cada linhagem com seu tipo próprio de fator. Entretanto, um componente universal muito importante que auxilia no processo patogênico de todas as linhagens nocivas são as fímbrias. As fímbrias são proteínas filamentosas que se projetam a partir da superfície celular e servem, entre outras funções, para conferir capacidade adesiva às células. Todas as linhagens patogênicas de *E. coli* possuem fímbrias especializadas que mediam a adesão da bactéria a tipos específicos de células do epitélio intestinal, sendo cruciais no mecanismo patogênico (TORTORA, DERRICKSON, 2012).

Quanto ao fator de virulência específico presente nas linhagens de *E. coli*, esta é classificada basicamente em seis patótipos. O primeiro patótipo a ser tratado aqui é a *E. coli* enterotoxigênica (ETEC, do inglês *Enterotoxigenic E. coli*), cujas células não invadem as células epiteliais intestinais, mas se aderem a elas e produzem toxinas. A ETEC causa diarreia infecciosa tanto em adultos quanto em crianças, estando mais prevalente em lugares que não possuem saneamento básico. A toxina que produz se assemelha à toxina do *Vibrio cholerae*, provocando sintomas parecidos com a doença de cólera. O segundo patótipo é a *E. coli* enteropatogênica (EPEC, do inglês *Enteropathogenic E. coli*), cujas células se aderem tão intimamente às células epiteliais intestinais que causam lesão e acabam por invadir o tecido, porém, sem produzir toxinas. As crianças são mais susceptíveis à EPEC, que é altamente invasiva e causa uma resposta inflamatória e diarreia potencialmente fatal às crianças. Com sua invasão ao tecido intestinal, as microvilosidades vão desaparecendo, o que faz o tecido perder suas propriedades absorptivas de nutrientes (BHUNIA, 2008).

O terceiro patótipo, a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC, do inglês *Enterohemorrhagic E. coli*), além de aderir no epitélio intestinal e causar lesões como a EPEC, ainda produz toxinas. Ela é mais perigosa e causa diarreia sanguinolenta e a Síndrome Hemolítica Urêmica. A patogênese da EHEC é atribuída à produção da toxina Shiga e, por isto, este sorogrupo também é conhecido como *E. coli* produtora de Toxina Shiga (STEC, do inglês *Shiga toxin-producing E. coli*). Seu principal sorotipo é a *E. coli* O157:H7. O quarto patótipo é a *E. coli* enteroagregativa (EAEC, do inglês *Enteraggative E. coli*), a qual se adere ao epitélio intestinal, formando agregados que aparentam tijolos empilhados, e produz toxinas, porém não invade o tecido. Acomete tanto adultos quanto crianças e causa uma diarreia persistente, que dura aproximadamente 14 dias, causando significativo dano na mucosa intestinal (BHUNIA, 2008).

O quinto patótipo é chamado de *E. coli* enteroinvasiva (EIEC, do inglês *Enteroinvasive E. coli*) e causa uma infecção parecida com a causada por *Shigella*, tendo como principal sintoma a disenteria, caracterizada por diarreia mucoide sanguinolenta, devido à intensa resposta inflamatória causada pelo dano que vem pela invasão das células intestinais. A EIEC se adere ao epitélio intestinal, invade-o, se multiplica dentro das células epiteliais e então se move de célula em célula, espalhando-se na mucosa, mas não produz toxinas. Já o sexto e último patótipo, chamado de *E. coli* de adesão difusa (DAEC, do inglês *Diffusely adhering E. coli*) causa diarreia em crianças que é aquosa, mas sem sangue nem leucócitos. A DAEC se adere no epitélio intestinal, porém não produz toxinas e nem invade o tecido (BHUNIA, 2008).

2.2. Colibacilose aviária

Escherichia coli patogênica também acomete as aves, causando nelas, geralmente, infecção do trato respiratório ou septicemia. Nas aves, o principal patótipo responsável pelas infecções é a *E. coli* patogênica aviária (APEC, do inglês *Avian pathogenic E. coli*) e a infecção causada por ela é chamada genericamente de colibacilose aviária, a qual pode se desenvolver em diversas doenças. Os principais sorogrupos relacionados à APEC são o O1, O2, O5, O8, O18 e O78. Embora *E. coli* possa causar doenças intestinais nas aves, percebe-se que a maioria das APEC são o que se chama de *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC, do inglês *Extraintestinal pathogenic E. coli*), o que significa que as principais infecções nas aves não acontecem no intestino (BRAGA, ECCO, MARTINS, 2015).

A ExPEC acomete o hospedeiro ao colonizar sua mucosa ou por meio de lesões na pele da ave. Os fatores de virulência permitem que a ExPEC atravesse a mucosa e consiga sobreviver no ambiente extracelular. Sem estes fatores de virulência, a bactéria é facilmente extinta por células fagocíticas. Portanto, não é qualquer APEC que consegue suceder a uma infecção. Vale ressaltar que as endotoxinas são um fator de virulência importante para a multiplicação e disseminação da APEC, já que limita a ação do sistema imune da ave contra a bactéria (BRAGA, ECCO, MARTINS, 2015).

Os sintomas variam de acordo com a doença que a APEC desenvolve, que por sua vez depende do local acometido para ser diagnosticada. A doença mais comum

é a doença respiratória crônica (DRC), que se inicia com a colonização e multiplicação da APEC no trato respiratório da ave. Depois de se multiplicar, a APEC se dissemina nos tecidos, causando lesões, sendo as três principais lesões (ou síndromes) relacionadas à DRC, as quais constituem a tríade de condenação da carcaça. Elas são a peri-hepatite, pericardite e aerossaculite. Outros tipos de doença causadas por colibacilose aviária são a coligranuloma, infecção do saco da gema, panoftalmite, septicemia aguda, peritonite, osteoartrite, sinovite, salpingite, entre outras (BRAGA, ECCO, MARTINS, 2015).

A colibacilose aviária é uma doença de relevância mundial, pois é uma das maiores causas de perdas econômicas na criação de aves comerciais, porque além de causar a mortalidade dos animais, acaba por condenar as carcaças das aves nos matadouros, sem contar com o aumento nos custos de criação pela implantação de estratégias para o tratamento das aves (BRAGA, ECCO, MARTINS, 2015).

Para tratar a colibacilose nas aves, os criadores se valem essencialmente de agentes antimicrobianos, acrescentando-os em baixas concentrações por longos períodos na dieta das aves. Todavia, o uso abusivo, desnecessário e indiscriminado de antimicrobianos têm causado constante aumento na incidência de bactérias que apresentam multirresistência a antimicrobianos, incluindo cepas de *E. coli*. Um risco preocupante da presença de resistência antimicrobiana em cepas de *E. coli* nas aves é a transmissão dessas bactérias resistentes ou até dos plasmídeos que contém genes de resistência para os seres humanos, por meio do consumo da carne contaminada ou então do contato de trabalhadores com as aves na cadeia de produção (SABATÉ et al., 2008).

2.3. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isolada de carne de frango

De acordo com dados levantados pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), a carne de ave é o tipo de proteína animal mais consumida no Brasil, e o Brasil se encontrou em sexto lugar no ranking mundial de consumo da carne de ave de 2020. Os dados dos anos anteriores demonstram que no ano de 1990 o brasileiro consumiu 12,5kg de carne de ave per capita. Desde então, observou-se um vertiginoso crescimento no consumo ao longo dessas últimas décadas, resultando no consumo de 40,5kg de carne de ave per capita no ano de

2011, evidenciando um crescimento de 324%, e desde então houve uma estabilização no consumo com leves oscilações, onde em 2020 houve o consumo de 40,8 kg de carne de ave per capita (OCDE, 2021). O Brasil é atualmente o maior exportador de carne de frango do mundo, com 3,7 milhões de toneladas exportadas em 2020, e o terceiro maior produtor de carne de frango do mundo, com 13,8 milhões de toneladas produzidas em 2020, atrás somente da China e dos Estados Unidos (USDA, 2021).

Juntando as informações a respeito da situação brasileira de produção, consumo e exportação de carne de frango com as questões da prevalência e tratamento da colibacilose aviária com antimicrobianos, pode-se ter ideia da situação do desenvolvimento de multirresistência antimicrobiana nas bactérias presentes nas aves, incluindo cepas de *E. coli*. Diversos estudos realizados ao redor do mundo já demonstraram o constante aumento da resistência antimicrobiana da *E. coli*, o que faz disto uma questão de saúde pública mundial, e não somente brasileira (CARDOSO et al., 2019; IBRAHIM et al., 2019; LANGATA et al., 2019; MOHAMED; SHEHATA; RAFEEK, 2014; TALEBYIAN et al., 2014). Sabe-se que cepas bacterianas multirresistentes em humanos podem complicar o tratamento e a profilaxia de infecções nos centros clínicos, contribuindo para o aumento do tempo de internações em hospitais e da mortalidade humana (COSTA et al., 2019).

Um estudo de caracterização da resistência antimicrobiana em 696 cepas de *E. coli* isoladas de frangos na China entre 1970 e 2007, mostrou que as taxas de resistência a ampicilina aumentaram de 23,1% em 1970 para 74,6% em 2003. A resistência a ampicilina das cepas de *E. coli* na China (74%) foi muito maior que a apresentada pelo Programa Integrado Canadense para Vigilância da Resistência Antimicrobiana (CIPARS), com 44% de resistência a ampicilina e pelo Sistema Nacional de Monitoramento de Resistência Antimicrobiana dos EUA (NARMS), com 25% resistência a ampicilina. Cepas de *E. coli* resistentes a cefalosporinas de primeira geração foram encontradas na China nos anos 1990, tendo uma taxa maior que 30% entre 2004 e 2007 e foram maiores que a taxa apresentada pelo NARMS de menos de 20% entre 2000 e 2006. Cepas resistentes a ceftazidima e ceftiofur não apareceram até 2000, mas depois disso as taxas de resistência aumentaram rapidamente. Embora a taxa de resistência ao ceftiofur (0,4%) fosse mais baixa que a registrada no CIPARS (10 a 20%) e no NARMS (~5%) entre 2000 e 2003, ela aumentou rapidamente para 22,5% entre 2004 e 2007 (CIPARS ~20% e NARMS ~10%). Já as taxas de resistência à cefazolina e cefalotina aumentaram,

respectivamente, de 2,7% e 5,4% nos anos 1990 para 30,5% e 37,5% entre 2004 e 2007. A crescente resistência antimicrobiana em cepas de *E. coli* isoladas de frango na China, pode ser atribuída ao uso excessivo de antimicrobianos, especialmente beta-lactâmicos, na produção avícola (LI et al, 2010).

No mesmo estudo ainda, a taxa de resistência de cepas de *E. coli* a doxiciclina variou de 47,1 a 73,0% entre 1970 a 2000, apresentando uma leve queda entre 2000 e 2007 (de 73,0% para 68,3%). Por outro lado, houve queda na resistência de *E. coli* à tetraciclina no NARMS, indo de 68,4% em 2000 para 40,2% em 2006. Já as cepas resistentes a quinolonas na China foram encontradas nos anos 1990, e a resistência a ciprofloxacina aumentou de 21,6% para 62,4% entre 1990 e 2003, e então apresentou um leve decréscimo para 60,0% entre 2004 e 2007. Essas taxas foram significativamente maiores que as taxas do NARMS (menos de 1%) e do CIPARS (0%) (LI et al., 2010).

Talebyian et al. (2014) analisaram 318 cepas de *E. coli* isoladas de frango comercial no Irã, entre 2009 e 2012, e encontraram os seguintes resultados para resistência em *E. coli*: 88,68% a tilosina, 71,70% a eritromicina, 43,40% a oxitetraciclina, 39,62% a trimetoprima, 35,85% a florfenicol, 33,96% a clortetraciclina, 32,08% a difloxacino, 28,30% a danofloxacino, 20,75% a cloranfenicol e 16,98% a doxiciclina. Os autores obtiveram baixos níveis de resistência a ciprofloxacina (7,55%) e gentamicina (5,66%) (TALEBYIAN et al., 2014). Entretanto, um estudo conduzido em 2011 no Egito analisando 25 amostras de frango obteve uma taxa de 100% de resistência de *E. coli* a gentamicina, enrofloxacino, pefloxacino e amoxicilina. Os resultados mostraram que 96% das cepas foram resistentes a norfloxacina, 92% a neomicina e flumequina, 88% a oxitetraciclina, estreptomicina e doxiciclina e 84% a sulfametoxazol-trimetoprima. Nesse estudo, relatou-se altas taxas de resistência antimicrobiana, assim como o fenômeno de multirresistência (MOHAMED; SHEHATA; RAFEEK, 2014).

Um estudo feito na Jordânia, com 269 cepas de *E. coli* evidenciou altas taxas de resistência a diversos antimicrobianos. As maiores taxas foram encontradas contra sulfametoxazol-trimetoprima (95,5%), florfenicol (93,7%), amoxicilina (93,3%), coxiciclina (92,2%) e espectinomicina (92,2%). As menores taxas foram referentes a ceftazidima (7,4%), ceftriaxona (4,8%), cefepima (3,3%) e aztreonam (5,6%). O único antimicrobiano que não apresentou resistência nesse estudo foi o imipenem (IBRAHIM et al., 2019). Em 2017, um estudo realizado em Nairóbi, capital do Quênia,

analisou 85 isolados de *E. coli* retirados de frangos e evidenciou os seguintes resultados: amoxicilina (54%) e cotrimoxazol (26%) apresentaram as maiores taxas de resistência, enquanto cloranfenicol (2%) e ácido nalidíxico (2%) apresentaram as menores taxas de resistência e não houve resistência para gentamicina e ciprofloxacina (LANGATA et al., 2019).

Outro estudo conduzido em alguns estados brasileiros (Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul e São Paulo) isolou 60 cepas de *E. coli* em amostras de aves comerciais, das quais 96,7% foram resistentes a amoxicilina, 90% a estreptomicina, 88,3% a enrofloxacino, 71,7% a tetraciclina, 70% a canamicina, 66,7% a doxiciclina, 61,7% a ceftiofur, 58,3% a sulfametoxazol-trimetoprima e 48,3% para fosfomicina, gentamicina e norfloxacino (CARDOSO et al., 2015).

No estudo de Korb et al. (2015), realizado no Paraná, analisou-se o perfil de resistência de 60 cepas de *E. coli* isoladas de frangos de corte. Os autores encontraram as seguintes porcentagens de resistência aos respectivos antimicrobianos: 100% para ampicilina, 83% para tetraciclina, 62% para ácido nalidíxico, 48% para ceftriaxona, 45% para sulfametoxazol-trimetoprima, 43% para cefotaxima, 23% para enrofloxacino e para ciprofloxacina, 20% para cefepima, 10% para nitrofurantoína, 5% para ceftazidima e 4% para fosfomicina.

Em São Paulo foi realizado um estudo de 76 isolados de *E. coli* de frangos de corte e a análise revelou que 78,9% das amostras apresentaram multirresistência e que todos os 12 antimicrobianos testados apresentaram certa taxa de resistência. Dos 76 isolados de *E. coli*, a maior taxa de resistência foi à amoxicilina (82,8%) e a menor taxa foi à gentamicina (13,2%). A seguir, seguem as taxas de resistência aos outros antimicrobianos analisados no estudo: 65,8% para enrofloxacino, 56,6% para cefalexina, 52,6% para estreptomicina, 47,4% para canamicina, 43,4% para doxiciclina, 34,2% para tetraciclina, 25% para sulfametoxazol-trimetoprima, 21,1% para fosfomicina, 17,1% para ciprofloxacino e 14,5 para norfloxacino (CARDOSO et al., 2019). Já um estudo no Rio de Janeiro, com 12 amostras de *E. coli* isoladas de frango, apresentou as seguintes porcentagens de resistência antimicrobiana: 91,7% para ácido pipemídico e ácido nalidíxico; 83,3% para oxacilina, norfloxacino e ciprofloxacino; 58,3% para nitrofurantoína; 41,7% para sulfametoxazol-trimetoprima e 25,0% para ceftazidima. Neste mesmo estudo, 100% das amostras foram resistentes a ampicilina, clindamicina, eritromicina, penicilina, tetraciclina, vancomicina e teicoplanina. Entretanto, não houve resistência a amicacina, a aztreonam e nem a

cefotaxima (GONÇALVES et al., 2012).

Embora o tratamento com antimicrobianos seja algo bem presente na criação de frangos de corte, Braga, Ecco e Martins (2015) sugerem procedimentos alternativos ao tratamento com antimicrobianos que ajudam a prevenir e a controlar a colibacilose aviária. Uma das principais medidas é o controle da contaminação ambiental, pois percebeu-se que o aumento da contaminação ambiental tem correlação positiva com o acometimento das aves por colibacilose. Outra medida igualmente válida é a tentativa do controle da contaminação intestinal das aves por sorotipos patogênicos. Uma forma de fazer isto seria alimentando os pintinhos recém-eclodidos com microbiota de aves resistentes. Uma outra medida que auxilia na prevenção da contaminação é pela fumigação dos ovos em até duas horas depois da postura. Descartar os ovos com rachaduras ou com contaminação fecal evidente também é uma medida preventiva, assim como o controle do ambiente em que as aves vivem (controle de ventilação, umidade, níveis de poeira e amônia no ar). Uma última e mais complexa medida é a seleção genética de aves menos susceptíveis à colibacilose, o que ajudaria na prevenção. Embora cada uma das propostas possa ter pontos negativos, assim como positivos, é necessário que se faça uma avaliação da implementação das medidas para que se evite a propagação da multirresistência antimicrobiana pelo uso irrestrito de antimicrobianos na criação das aves (BRAGA, ECCO, MARTINS, 2015).

3.Objetivos

3.1. Objetivo geral

Quantificar coliformes termotolerantes presentes em carnes de frango resfriadas comercializadas no Distrito Federal e isolar cepas de *E. coli* das amostras, com posterior avaliação da sua resistência antimicrobiana.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar o Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes em amostras de carne de frango resfriada;
- Isolar cepas de *E. coli* das amostras analisadas;
- Realizar teste de susceptibilidade antimicrobiana das cepas de *E. coli* isoladas, utilizando o método de difusão em disco (Kirby-Bauer).

4. Justificativa

De acordo com a OCDE (2021), houve um aumento exponencial no consumo de carne de frango no Brasil durante as últimas três décadas, o que conferiu à essa carne o status de proteína animal mais consumida no Brasil. Com isto, o controle de qualidade desse tipo de carne se torna essencial para garantir seu consumo seguro, haja vista que alguns microrganismos patogênicos podem ser veiculados por ela aos humanos, causando doenças transmitidas por alimentos (DTA). Além disso, o uso desenfreado e irresponsável de agentes antimicrobianos na criação de aves comerciais tem promovido o surgimento crescente de microrganismos multirresistentes a drogas, os quais podem dificultar o tratamento e profilaxia de infecções. Portanto, estudos da qualidade microbiológica de alimentos, incluindo a carne de frango, e estudos da sua contaminação por microrganismos multirresistentes se tornam uma questão de saúde pública e seus resultados contribuem para a vigilância da resistência antimicrobiana, assim como para a elaboração de políticas de uso racional de agentes antimicrobianos na criação de aves de abate.

5. Materiais e métodos

5.1. Coleta das amostras

Foram coletadas 18 amostras de carne de frango resfriada de diversos cortes (filé de peito, coxa, coxa com sobrecoxa, sobrecoxa, miúdos e coxinha da asa) embaladas em bandejas de isopor, dentro da validade, as quais estavam expostas ao consumo em balcões refrigerados de diferentes estabelecimentos comerciais do Distrito Federal, como padarias e supermercados. Todas as amostras foram transportadas para o Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Ceilândia da UnB, entre 30 a 50 minutos, onde começaram a ser analisadas no prazo máximo de 1 hora após a coleta.

5.2. Análises microbiológicas

Para o preparo das amostras foram pesados, assepticamente, 25 g de cada amostra, os quais foram diluídos em 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v), produzindo-se assim uma solução com diluição de dez vezes da amostra. A partir dela, foi feita a diluição de 100 vezes e, a partir desta última, foi feita a diluição de 1.000 vezes. Para a determinação do Número Mais Provável de coliformes termotolerantes (NMP/g), as amostras de cada diluição foram inicialmente inoculadas em caldo Lauril Sulfato Triptose a 37°C por 24 h, tudo em triplicata. Assim, ao inocular neste caldo, cada amostra gerou nove tubos, três de cada diluição.

Após esse passo, alíquotas dos tubos positivos foram inoculadas em caldo *Escherichia coli* (caldo EC) em banho-maria a 45°C por 24 h. Por fim, dos tubos positivos do caldo EC, alíquotas foram inoculadas no meio Ágar *MacConkey*, do qual foram isoladas as cepas de *E. coli*.

5.3. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos

A susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de difusão em disco (Kirby-Bauer), utilizando o protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2020). As zonas de inibição foram medidas e classificadas como sensível, intermediária e resistente utilizando como parâmetro o

padrão do CLSI (2020). Os antimicrobianos, com suas respectivas concentrações e classes, testados foram: amoxicilina com ácido clavulânico (20 + 10 µg) (β-lactâmico/penicilina), ceftazidima (30 µg) (β-lactâmico/cefalosporina), cefotaxima (30 µg) (β-lactâmico/cefalosporina), gentamicina (10 µg) (aminoglicosídeo), cloranfenicol (30 µg) (fenicol), imipenem (10 µg) (β-lactâmico/carbapenem), tetraciclina (30 µg) (tetraciclina), ciprofloxacina (5 µg) (quinolona) e sulfonamida (300 µg) (sulfonamida).

6. Resultados e discussão

A quantificação de coliformes termotolerantes das amostras de carne de frango analisadas neste estudo está apresentada na Tabela 1. Do total de amostras, 18 (100%) apresentaram coliformes termotolerantes. Entretanto, em todas as amostras a quantificação apresentou valores abaixo do limite permitido pela legislação brasileira, sendo todas as amostras de carne de frango consideradas próprias para o consumo. O limite para coliformes termotolerantes em carnes de aves no Brasil é de $5,0 \times 10^3$ NMP/g (BRASIL, 2019). A amostra 10, a qual apresentou a maior quantificação de coliformes termotolerantes, teve valor de $1,1 \times 10^3$ NMP/g.

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

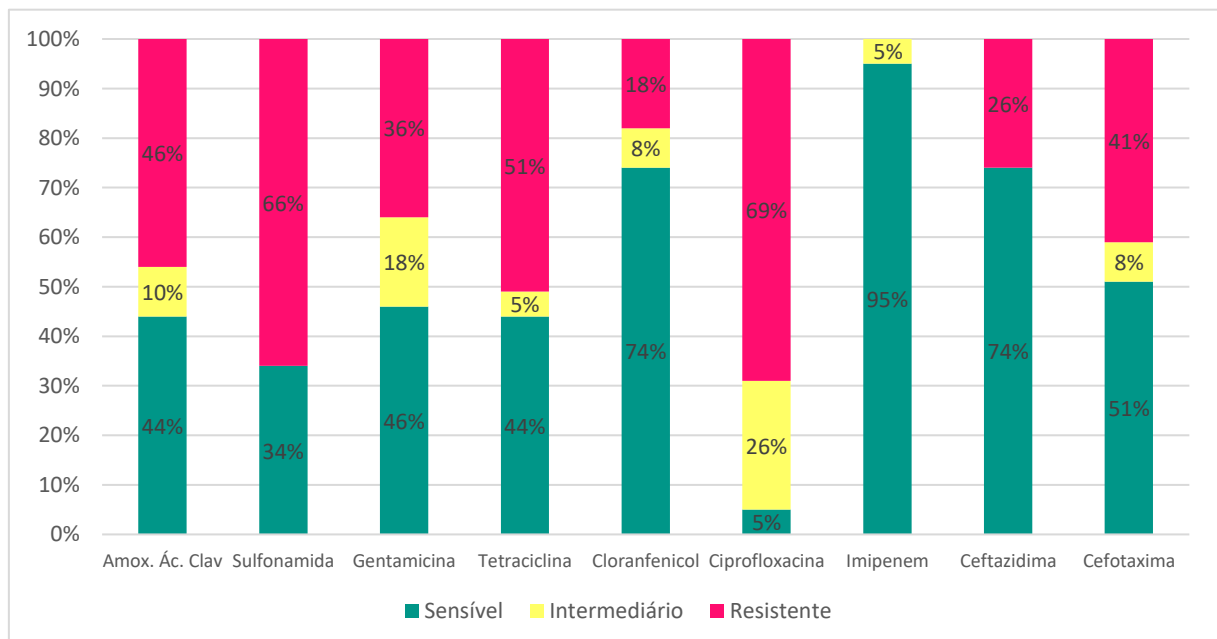
Amostra de Frango Número	Corte da Carne de Frango	Quantidade de Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	Presença de <i>Escherichia coli</i>
1	Sobrecoxa	$9,3 \times 10^1$	Presente
2	Coxa c/ Sobrecoxa	$1,5 \times 10^1$	Presente
3	Coxinha da asa	$1,2 \times 10^2$	Presente
4	Coxinha da asa	$9,2 \times 10^1$	Presente
5	Filé de Peito	$3,0 \times 10^1$	Não Detectada
6	Coxinha da asa	$7,4 \times 10^1$	Presente
7	Coxinha da asa	$2,1 \times 10^1$	Presente
8	Coxinha da asa	$2,3 \times 10^1$	Não Detectada
9	Coxinha da asa	$3,6 \times 10^1$	Presente
10	Miúdos	$1,1 \times 10^3$	Presente
11	Miúdos	$7,5 \times 10^1$	Presente
12	Coxa	$2,1 \times 10^1$	Presente
13	Filé de Peito	$3,6 \times 10^1$	Presente
14	Coxinha da asa	$1,5 \times 10^2$	Presente
15	Coxinha da asa	$9,3 \times 10^1$	Presente
16	Filé de Peito	$3,6 \times 10^1$	Não Detectada
17	Miúdos	$4,6 \times 10^2$	Presente
18	Sobrecoxa	$2,1 \times 10^1$	Presente

Ao se comparar com a legislação da Nova Zelândia, cujo limite de coliformes termotolerantes é de $2,0 \times 10^3$ NMP/g (NEW ZEALAND, 1995), todas as amostras

ainda seriam consideradas próprias para consumo. Porém, ao se comparar com a legislação da Turquia (TURKEY, 2001), país cujo limite é mais rigoroso ($1,0 \times 10^2$ NMP/g), 14 amostras (77,8%) estariam dentro do limite e os 22,2% restantes (4 amostras) seriam consideradas impróprias para consumo. Quanto à bactéria *Escherichia coli*, esta esteve presente em 15 das 18 das amostras, o que representa 83,3% do total.

Das 15 amostras de carne de frango que continham *Escherichia coli*, foram isoladas 39 cepas da bactéria, uma cepa a partir de cada tubo positivo no caldo EC. O perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 39 cepas de *E. coli* testadas contra nove antimicrobianos diferentes está apresentado na Figura 1. Os antimicrobianos aos quais as cepas de *E. coli* apresentaram maior resistência foram ciprofloxacina com 69% (27/39), sulfonamida com 66% (26/39) e tetraciclina com 51% (20/39). Já os antimicrobianos aos quais as cepas de *E. coli* apresentaram maior sensibilidade foram imipenem com 95% (37/39), cloranfenicol com 74% (29/39) e ceftazidima com 74% (29/39). É importante ressaltar que neste estudo não houve resistência ao imipenem, sendo 95% das cepas sensíveis e os 5% restantes foram tidas como intermediárias no antibiograma, o que pode ser considerado uma tendência crescente, mas ainda inicial, de resistência ao imipenem, já que essas cepas intermediárias podem se tornar resistentes.

Figura 1. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias *E. coli* isoladas das amostras de carne de frango (porcentagem com base em 39 cepas).



As taxas de resistência à ciprofloxacina de alguns estudos foram menores se comparadas ao nosso estudo, como 17,1% encontrada por Cardoso et al. (2019), 7,55% por Talebiyan et al. (2014), 0% por Langata et al. (2019) e 23% por Korb et al. (2015). Em contrapartida, a taxa de resistência à ciprofloxacina encontrada por Gonçalves et al. (2012) de 83,3% foi mais elevada que a encontrada neste estudo (69%). Um estudo feito no estado de Pernambuco, analisou 35 cepas de *E. coli* isoladas de frango de corte, e obteve taxas de resistência de 100% para enrofloxacino (BARROS et al., 2012). Cardoso et al. (2015) reportaram 88,3% de resistência a enrofloxacino em cepas de *E. coli* isoladas de aves comerciais de alguns estados brasileiros. A resistência das cepas de *E. coli* às quinolonas como ciprofloxacina e enrofloxacina provavelmente se deve ao uso excessivo dessa classe de antimicrobiano para fins terapêuticos na criação avícola. As fluoroquinolonas são importantes para o tratamento de infecções graves por *E. coli* em humanos e uma supervisão contínua é necessária para detectar fenótipos resistentes (POIREL et al., 2012).

As cepas de *E. coli* deste estudo apresentaram elevada resistência a sulfonamida (66%). No estudo de Yassin et al. (2017), do total de 644 cepas de *E. coli* extra intestinais isoladas de amostras de frango, 78,9% apresentaram resistência 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.

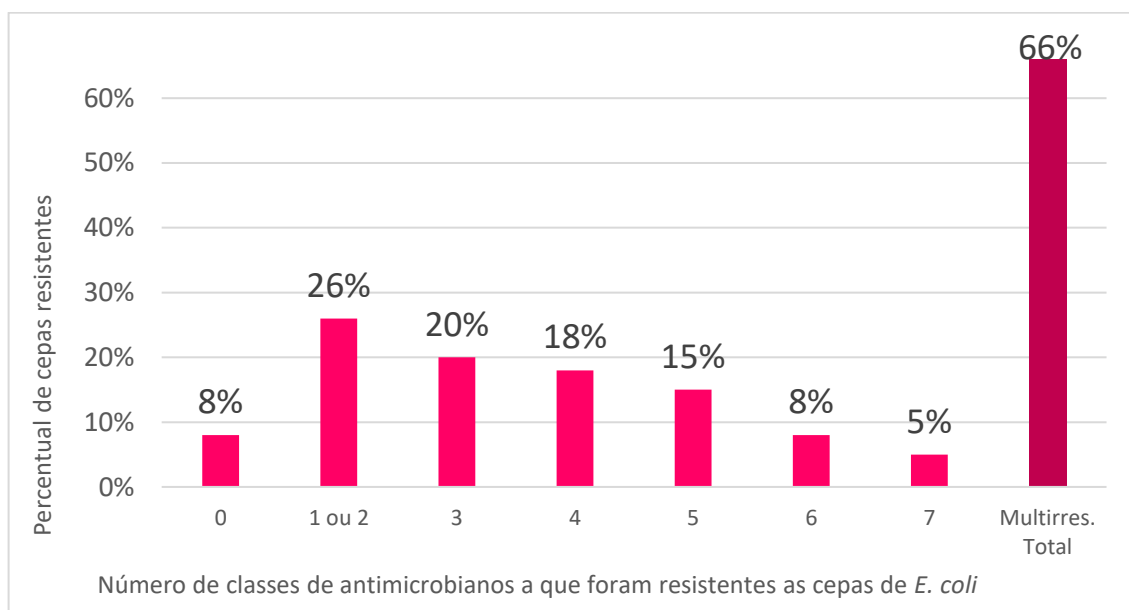
Cardoso et al. (2015) analisaram 60 cepas de *E. coli* isoladas de aves de corte provenientes dos estados de Goiás, São Paulo, Bahia e Mato Grosso do Sul, e a taxa de resistência à tetraciclina foi consideravelmente maior que neste estudo (71,7% comparado com 51% deste estudo). De acordo com os autores, a tetraciclina é utilizada na avicultura há décadas por seu baixo custo e por isto sua resistência antimicrobiana tem aumentado drasticamente. Korb et al. (2015) avaliaram 60 cepas de *E. coli* provenientes de frango de criação intensiva e 60 cepas de *E. coli* provenientes de frango de criação de subsistência, e a taxa de resistência à tetraciclina das cepas de criação intensiva foi de 83% e das cepas de criação de subsistência foi de 33%. Este estudo ainda demonstrou elevada resistência para a ampicilina (100%) nos isolados de *E. coli* de frangos de criação intensiva

comparativamente aos isolados de *E. coli* de frangos de criação de subsistência (20%), o que indica a pressão seletiva exercida pelo uso excessivo de antimicrobianos na produção intensiva.

Num estudo realizado no Irã com 318 cepas isoladas de frango, Talebiyan et al. (2014) encontraram taxa de resistência ao cloranfenicol (20,7%) equivalente à encontrada neste estudo (18%). Esta baixa taxa de resistência ao cloranfenicol pode ser explicada pelo pouco uso do antimicrobiano na criação de aves e inclusive mais recentemente pela sua proibição de uso no Irã. No Brasil há a proibição do uso de cloranfenicol, tetraciclina, penicilinas e sulfonamidas em aditivos alimentares, conservantes de alimentos para animais ou promotores de crescimento (BRASIL, 1998). Entretanto antimicrobianos como tetraciclina, penicilinas e sulfonamidas não são proibidos para uso terapêutico na criação animal.

Das 39 cepas de *E. coli* analisadas neste estudo, 92% (36 cepas) apresentaram resistência a pelo menos uma classe de antimicrobianos (Figura 2). Com relação à multirresistência aos antimicrobianos, este estudo apontou que 26 cepas de *E. coli* (66%) apresentaram multirresistência, ou seja, foram resistentes a 3 ou mais classes de antimicrobianos.

Figura 2. Porcentagem de cepas de *E. coli* isoladas de carne de frango em relação a resistência e multirresistência (resistência a três ou mais classes) aos antimicrobianos.



Apenas 13 cepas (34%) deste estudo não apresentaram multirresistência, sendo 3 cepas (8%) sensíveis a todas as classes de antimicrobianos e 10 cepas (26%) resistentes a apenas uma ou duas classes de antimicrobianos. Estes dados são considerados preocupantes, visto que a taxa de multirresistência deste estudo foi elevada e nesses casos, as opções para o tratamento de infecções são mais restritas.

Os valores de multirresistência encontrados por Barros et al. (2012) foram bem mais elevados (94,2%) em comparação com os valores deste estudo (66%). De acordo com os autores, a alta taxa de multirresistência pode ser explicada pelo uso indiscriminado de antimicrobianos nos criadouros avícolas ao longo do tempo, o que vem provocando um aumento gradual da resistência antimicrobiana em *E. coli*. No estudo de Zhang et al. (2017), que analisaram 7.568 cepas de *E. coli* isoladas de frango entre 2008 e 2015 na China, também se evidenciou alta prevalência de cepas multirresistentes (90%).

No estudo realizado por Korb et al. (2015), no Paraná, 81,6% das cepas isoladas de frangos de criação intensiva apresentaram multirresistência (49 de 60 cepas), comparadas com 46,6% de multirresistência das cepas isoladas de frangos de subsistência (28 de 60 cepas). Os resultados indicaram que há diferença significativa da resistência entre os dois grupos de frangos, sendo que os de criação intensiva apresentaram maior resistência, podendo ser o reflexo do uso mais frequente de antimicrobianos na criação dos frangos. Portanto, a depender das práticas avícolas dos criadouros, pode haver uma taxa de resistência antimicrobiana maior de certas bactérias. Esse fato pode explicar os diferentes resultados encontrados em diversos estudos.

Ademais, numa comparação de dois estudos realizados para avaliação do perfil de resistência antimicrobiana de *E. coli* isolada de aves comerciais com diferença de um ano entre eles (Cardoso et al., 2015; Cardoso et al., 2019), os autores encontraram diferentes valores de resistência e multirresistência antimicrobiana, sendo que o estudo foi realizado nos mesmos locais, variando apenas o ano de realização. De acordo com os autores, a resistência antimicrobiana varia com a localização geográfica e vai se modificando com o passar do tempo, mesmo que seja na mesma localização. Este fato é importante para ressaltar a relevância dos estudos de avaliação da resistência antimicrobiana, mesmo que seja dos mesmos locais onde já

se havia realizado o estudo, mas em anos diferentes, sendo esse acompanhamento essencial para o sucesso terapêutico e vigilância da resistência antimicrobiana local.

Na Tabela 2 estão apresentados os perfis de multirresistência das bactérias deste estudo e ao todo foram encontrados 20 perfis. Destes, os perfis que possuíram mais cepas que os representam foram o perfil 6, com 3 cepas resistentes a 6 antimicrobianos (TET, AMC, CIP, CTX, CAZ, SUL) e o perfil 20, com 3 cepas resistentes a 3 antimicrobianos (TET, CIP e SUL).

Tabela 2. 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	GEN, TET, AMC, CIP, CTX, CAZ, CLO, SUL	8	1
2	GEN, TET, AMC, CIP, CTX, CAZ, SUL	7	2
3	GEN, TET, AMC, CIP, CTX, CLO, SUL	7	1
4	AMC, CIP, CTX, CAZ, CLO, SUL	6	1
5	TET, AMC, CIP, CTX, CLO, SUL	6	1
6	TET, AMC, CIP, CTX, CAZ, SUL	6	3
7	GEN, TET, CIP, CLO, SUL	5	1
8	TET, AMC, CIP, CTX, SUL	5	1
9	TET, CIP, CTX, CAZ, SUL	5	1
10	GEN, CAZ, CLO, SUL	4	1
11	AMC, CIP, CTX, SUL	4	1
12	GEN, AMC, CTX, SUL	4	1
13	GEN, CIP, CTX, SUL	4	1
14	GEN, TET, CIP, SUL	4	2
15	GEN, AMC, SUL	3	1
16	CIP, CLO, SUL	3	1
17	TET, CIP, CTX	3	1
18	AMC, CTX, SUL	3	1
19	AMC, CIP, CAZ	3	1
20	TET, CIP, SUL	3	3
Total de cepas			26

*Número de antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram resistência; **Número de cepas com perfil de resistência; GEN: gentamicina; TET: tetraciclina; AMC: amoxicilina/ácido clavulânico, CIP: ciprofloxacino; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima, CLO: cloranfenicol, SUL: sulfonamida.

É importante ressaltar que a resistência a sulfonamida (SUL) estava presente em 18 perfis (90%). E, 16 perfis (80%) continham resistência a ciprofloxacina (CIP), 13 (65%) a cefotaxima (CTX) e 11 (55%) a tetraciclina (TET). Estes dados são importantes para entender a relação de corresponsabilidade a certos antimicrobianos. Neste estudo, por exemplo, foi muito frequente a corresponsabilidade a sulfonamida, ciprofloxacina e cefotaxima. O fenômeno de corresponsabilidade a antimicrobianos tem sido descrito em diversos estudos e representa uma crescente preocupação à saúde pública e à medicina por restringir possibilidades de tratamento das infecções bacterianas (OSMAN et al., 2018). Essa diminuição da disponibilidade de antimicrobianos que sejam capazes de tratar efetivamente infecções acaba levando à escolha de antimicrobianos mais tóxicos e mais caros. Em termos de saúde humana, isso traz riscos ao paciente, contribui para o aumento do tempo de internação e aumenta os custos para o sistema de saúde (COSTA et al., 2019).

Com o estabelecimento de legislações e programas que restringem o acesso aos antimicrobianos no Brasil, há estudos que relatam a diminuição do uso excessivo e desnecessário de antimicrobianos na terapêutica humana, o que tem sido uma utilidade pública (COSTA et al., 2019; BEZERRA et al., 2021; LADEIRA et al., 2017). Entretanto, é preciso que as medidas de restrição de acesso aos antimicrobianos alcancem melhores resultados para causar grande impacto na saúde pública. É necessário que também se estabeleçam mais medidas de restrição na medicina veterinária, que representa uma importante fonte do desenvolvimento de resistência antimicrobiana.

Muitos estudos apontam o desenvolvimento de diversas novas substâncias antimicrobianas, e o que se tem descoberto é promissor para a terapêutica humana (SILVA, AQUINO, 2018). Entretanto, se não houver o desenvolvimento de uma consciência mundial de uso racional de antimicrobianos, a difusão da resistência e multirresistência antimicrobiana pode colocar tudo a perder.

Para compreender de forma mais precisa a situação do uso indiscriminado de antimicrobianos no país, é necessário o acesso a dados específicos que levem em conta o volume consumido por classes de antimicrobianos, tanto os que são para uso humano quanto os que são para uso veterinário. A falta de informações precisas a este respeito no Brasil impossibilita uma análise mais detalhada sobre a verdadeira situação do uso abusivo de antimicrobianos no país que leve em consideração o contexto local socioeconômico e de saúde, que são relevantes para essas análises.

Essa falta de dados compreende tanto a medicina humana quanto a medicina veterinária (KORB et al., 2015). A necessidade das informações a respeito do consumo de antimicrobianos no Brasil são de extrema importância, dado o fato de que o Brasil é o maior exportador de carne de aves do mundo, o terceiro maior produtor e o sexto país que mais consome a carne de frango (USDA, 2021).

Das poucas informações precisas disponíveis que temos, um relatório da OMS de 2018 que reuniu dados sobre o consumo de antimicrobianos para a saúde humana em 65 países do mundo, demonstrou que o Brasil obteve a liderança de consumo entre os países das Américas e sua média de consumo ultrapassou a média de consumo da Europa (WHO, 2018).

7. Conclusão

Neste estudo, todas as 18 amostras de carne de frango analisadas tiveram enumeração positiva de coliformes termotolerantes, porém a quantidade destes nas amostras não excedeu o limite estabelecido pela legislação brasileira, e todas as amostras foram consideradas próprias para o consumo. Entretanto, as cepas de *E. coli* isoladas dessas amostras apresentaram elevada resistência antimicrobiana. Os antimicrobianos aos quais as cepas de *E. coli* foram mais resistentes foram ciprofloxacina (69%), sulfonamida (66%) tetraciclina (51%). Outrossim, 66% das cepas apresentaram multirresistência e o fenômeno de coresistência também foi observado.

Estudos têm correlacionado o desenvolvimento da resistência antimicrobiana à pressão seletiva causada pelo uso excessivo, e em muitos casos desnecessário, de antimicrobianos na criação das aves. Para refrear o constante desenvolvimento da resistência antimicrobiana, é necessário que se desenvolvam políticas de restrição do uso de antimicrobianos na medicina humana e veterinária e políticas de uso racional de antimicrobianos no Brasil. Para evitar o adoecimento das aves nos criadouros, é necessário o estabelecimento de melhores práticas avícolas que proponham um ambiente mais limpo e higiênico e de estratégias eficazes que impeçam a transmissão dos patógenos para as aves e entre as aves.

Estudos da prevalência da resistência antimicrobiana de bactérias em alimentos são de extrema relevância no cenário atual, onde se observa o crescimento de bactérias resistentes, multirresistentes e até super-resistentes em todo o mundo, pois nos ajuda a acompanhar a evolução da resistência e utilizar os dados obtidos como base e justificativa para implementação de políticas que combatem o uso indiscriminado e indevido de antimicrobianos. Ainda, tais estudos são necessários pelo fato de o nível de resistência antimicrobiana mudar geograficamente e também com o passar do tempo.

8. Referências Bibliográficas

BARROS, R. et al. Resistência antimicrobiana e perfil plasmidial de *Escherichia coli* isolada de frangos de corte e poedeiras comerciais no Estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 404-410, 2012.

BEZERRA, V., et al. Avaliação do perfil de uso de antimicrobianos em uma unidade de terapia intensiva após implementação do Programa *Stewardship*. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 12, n. 2, 2021.

BHUNIA, A. **Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and pathogenesis**. West Lafayette: Springer, 2008.

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

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. **Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 23 dez. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 193, de 12 de maio de 1998. **Estabelece o Regulamento técnico para licenciamento e a renovação de licença de antimicrobianos de uso veterinário**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 13 mai. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Brasília, 2011.

BRASIL. Presidência da República. Casa civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Decreto Nº 5.440, de 4 de maio de 2005. **Estabelece definições e procedimentos sobre o controle de qualidade da água de sistemas de abastecimento e institui**

mecanismos e instrumentos para divulgação de informação ao consumidor sobre a qualidade da água para consumo humano. Brasília, 2005.

CARDOSO, A.L.S.P., et al. Avaliação do perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isolada de aves comerciais. **Nutritime**, v. 12, 2015.

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

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI M100; 332 p., 2020.

COLI. In: INFOPÉDIA, Dicionário de Português Online. Porto: Porto Editora, 2021. Disponível em: <<https://www.infopedia.pt/dicionarios/lingua-portuguesa/coli-?express=coli>>. Acesso em: 26 de março de 2021.

COSTA, J., et al. Medida restritiva para comercialização de antimicrobianos no Brasil: resultados alcançados. **Revista de Saúde Pública**, v. 53, p. 68, 2019.

FERREIRA, E. M. et al. Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 49-54, 2014.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2 Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

GOMES, T. et al. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 3-30, 2016.

GONÇALVES, P. et al. Perfil de Resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* positiva para gene *lss* em frangos de corte na idade de abate. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 8, p. 1288, 2012.

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.

KORB, A. et al. Tipagem molecular e resistência aos antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli* de frangos de corte e de tratadores na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 258-264, 2015.

LADEIRA, R., et al. Perfil de dispensação de antimicrobianos antes e depois da promulgação da RDC 44/2010. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 8, n. 2, 2017.

LANGATA, L., et al. Antimicrobial resistance genes in *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates from chicken droppings in Nairobi, Kenya. **BMC Research Notes**, v. 12, n. 1, p. 1-6, 2019.

LI, L., et al. Characterization of antimicrobial resistance and molecular determinants of beta-lactamase in *Escherichia coli* isolated from chickens in China during 1970–2007. **Veterinary Microbiology**, v. 144, p. 505-510, 2010.

MADIGAN, T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14 Ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

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

NEW ZEALAND. Food Administration Manual: Microbiological Reference Criteria For Food. v. 2, 1995.

OCDE, Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico. Meat consumption (indicator). 2021. Disponível em: <<https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm>>. Acesso em: 13 de março de 2021.

OSMAN, K. et al. Poultry hatcheries as potential reservoirs for antimicrobial-resistant *Escherichia coli*: A risk to public health and food safety. **Scientific Reports**, v. 8, n.

5.859, 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.

SABATÉ, M., et al. Virulence and antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from human and animal wastewater. **Research in Microbiology**, v. 159, n. 4, p.288-293, 2008.

SILVA, M.O., AQUINO, S. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 4, 2018.

TALEBIYAN, R., et al. Multiple antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens in Iran. **Veterinary Medicine International**, p. 1-4, 2014.

TORTORA, G.; DERRICKSON, B. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. 12 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

TURKEY. Ministry of Agricultural and Rural Affairs. Turkish Food Codex: Regulations on fresh meat, prepared meat and prepared meat mixtures. Official Gazette, Ankara, 2001.

USDA. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>>. Acesso em: 18 de abril de 2021.

WHO, World Health Organization. WHO Report on Surveillance of Antibiotic Consumption: 2016-2018 Early Implementation. Geneva, 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.

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.