

Perfil de resistência fenotípica e genotípica de enterobactérias isoladas de frangos classificados de acordo com o desempenho zootécnico

Phenotypic and genotypic resistance profile of enterobacteria isolated from broiler chickens classified according to their zootechnical performance

Taniara Suelen Mezalira¹, Camila de Cuffa Matusaiki¹, Itaruã Machri Colla¹, Maísa Fabiana Menck-Costa², Kelly Cristina Tagliari de Brito^{3,4}, Renata Katsuko Takayama Kobayashi⁵, Benito Guimarães de Brito^{3,4}, Rafael Silva Tarifa Navarro, Luciana Kazue Otutumi^{2,5,6}

1. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos, Universidade Paranaense (UNIPAR) – Umuarama, PR, Brasil; 2. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas (CCB), Universidade Estadual de Londrina (UEL) – Londrina, PR, Brasil; 3. Programa de Pós-graduação em Saúde Animal, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI); 4. Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO); 5. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPG-Biotec), Centro de Ciências Exatas (CCE), UEL – Londrina, PR, Brasil; 6. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial (PPGFCL), Centro de Ciências da Saúde (CCS), UEL – Londrina, PR, Brasil.

Mezalira, T. S.
tani_mezalira@hotmail.com,
<https://orcid.org/0000-0001-9426-3079>

Matusaiki, C. de C.
camila.matusaiki@edu.unipar.br
<https://orcid.org/0000-0002-2875-108X>

Colla, I. M.
itarua.colla@edu.unipar.br
<https://orcid.org/0009-0001-2547-6078>

Menck-Costa, M. F.
maisafabi@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6788-7182>

Brito, K. C. T. de
kellybritofepagro@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0429-8276>

Kobayashi, R. K. T.
kobayashirt@uel.br
<https://orcid.org/0000-0001-7170-2155>

Brito, B. G. de
benitobrito@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-7815-5166>

Navarro, R. S. T.
r.navarro@edu.unipar.br
<https://orcid.org/0009-0007-1732-9936>

Otutumi, L. K.*
otutumi@prof.unipar.br
<https://orcid.org/0000-0003-0426-6431>

* **Autora Correspondente:** Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, Centro, 87502-210, Umuarama, PR.

Resumo: A produção de carne de frango apresenta grande potencial devido ao baixo custo e rápida disponibilidade, no entanto, o uso indiscriminado de antimicrobianos durante sua criação contribuiu para o surgimento de cepas resistentes, justificando a busca por aditivos alternativos. O objetivo do trabalho foi avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos, a presença de cepas produtoras de β -lactamase de espectro estendido (ESBL) e o perfil de genes de resistência às cefalosporinas em enterobactérias isoladas de frangos de corte. Foram colhidas 20 amostras de swab cloacal de frangos oriundos de aviários de produtores classificados como bom (A) e baixo (B) desempenho zootécnico. Para o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos, foi utilizado o teste de difusão em disco, sendo testados antimicrobianos das classes dos beta-lactâmicos, quinolonas e outras, e o teste sinérgico do duplo disco para a identificação de cepas produtoras de ESBL. Isolados positivos para ESBL foram submetidos à avaliação da presença de genes (bla_{CTX-M1} , bla_{CTX-M2} , bla_{CTX-M9} e $bla_{CTX-M25}$). Verificou-se que apenas um isolado de enterobactéria (produtor A) foi sensível a todos os antimicrobianos. A classe dos beta-lactâmicos apresentou maior percentual de resistência, e 52,9% dos isolados de *E. coli* foram positivos para a produção de ESBL. No entanto, no produtor A houve predomínio dos genes bla_{CTX-M1} e bla_{SHV} . Enquanto no produtor B, maiores percentuais foram encontrados para bla_{CTX-M1} e bla_{CTX-M2} . Salienta-se que nenhum isolado apresentou os genes bla_{CTX-M9} e $bla_{CTX-M25}$. Conclui-se que enterobactérias isoladas de swab cloacal de frangos de corte apresentam perfil de resistência a diferentes antimicrobianos, principalmente da classe dos β -lactâmicos, sendo portadores de um ou mais genes ESBL.

Palavras-chave: Enterobacteriaceae, *E. coli*, Genes, Resistência às Cefalosporinas.

Abstract: Chicken meat production has great potential due to its low cost and rapid availability. However, the indiscriminate use of antimicrobials during its production has contributed to the emergence of resistant strains, justifying the search for alternative additives. The objective of this study was to evaluate the antimicrobial resistance profile, the presence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing strains, and the cephalosporin resistance gene profile in Enterobacteriaceae isolated from broiler chickens. Twenty cloacal swab samples were collected from chickens from chickens raised on poultry farms of producers classified as having good (A) and low (B) zootechnical performance. The disk diffusion test was used to test antimicrobial susceptibility, testing antimicrobials from the beta-lactam, quinolone and other classes, and the double disk synergistic test was used to identify ESBL-producing strains. Isolates positive for ESBL were submitted to evaluation for the presence of genes (bla_{CTX-M1} , bla_{CTX-M2} , bla_{CTX-M9} and $bla_{CTX-M25}$). It was found that only one isolate of enterobacteria (producer A) was sensitive to all antimicrobials. The beta-lactam class showed the highest percentage of resistance, and 52.9% of the *E. coli* isolates were positive for ESBL production. However, in producer A there was a predominance of the bla_{CTX-M1} and bla_{SHV} genes. While in producer B, higher percentages were found for bla_{CTX-M1} and bla_{CTX-M2} . It is noteworthy that no isolate presented the bla_{CTX-M9} and $bla_{CTX-M25}$ genes. It is concluded that enterobacteria isolated from cloacal swabs of broiler chickens present a resistance profile to different antimicrobials, mainly from the β -lactam class, carrying one or more ESBL genes.

Keywords: Cephalosporin resistance, Enterobacteriaceae, *E. coli*, Genes

1 INTRODUÇÃO

A avicultura é uma atividade em grande expansão no agronegócio brasileiro. Os dados da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2024) mostram que o Brasil produziu 14,833 milhões de toneladas de carne de frango em 2023, fazendo com que se mantivesse como o segundo maior produtor e maior exportador mundial, em um mercado onde se destacam ainda Estados Unidos e China. Além disso, a carne de frango apresenta grande potencial de crescimento de consumo no mundo (Talamini; Martins, 2021), como reflexo do fato de ser considerada uma fonte de proteína de rápida disponibilidade e de baixo custo (Embrapa, 2022; USDA, 2021).

Para garantir e atender a alta demanda e baixo custo, altas tecnologias, nutrição, genética e sanidade são aplicados durante a produção de frangos de corte, além do modelo de produção em sistema de integração (Teixeira, Teixeira, 2021), onde a empresa integradora fornece os pintinhos de um dia, insumos, ração, transporte e abate das aves (Figueiredo et al., 2006), e o produtor se responsabiliza pela mão de obra especializada, estrutura e custeios com equipamentos e energia elétrica (Rodrigues et al., 2014).

Nesse contexto, a rentabilidade é obtida quando bons indicadores zootécnicos como conversão alimentar, ganho de peso diário e mortalidade são alcançados (Souza, 2021). No entanto, a temperatura, umidade, ventilação, iluminação (Amaral et al., 2011) e o fator humano relacionado a mão de obra diária no manejo de frangos de corte podem comprometer o desempenho zootécnico dos lotes (Sens, 2018), podendo resultar em baixo ganho de peso ou lotes com baixo desempenho zootécnico, o que diferenciam os bons produtores dos produtores com baixo desempenho e resultado zootécnico.

Por outro lado, a produção em larga escala e em alta densidade das criações possibilitam um ambiente favorável para a multiplicação, disseminação e perpetuação de vários patógenos (Andrade & Freitas, 2018) tornando as aves mais susceptíveis ao desenvolvimento de doenças (Dalólio, 2015) com um aumento na taxa de infecção, da contaminação das carcaças, além dos agravos com as doenças de origem alimentar (Garcia, 2019). Dessa forma, as enterobactérias

apresentam grande importância na produção avícola, pois constituem um grupo de bactérias Gram-negativas comumente encontradas na microbiota intestinal de animais, tanto nas aves, como do homem, podendo ainda ser encontradas no solo, na água e vegetações (Puerta-García & Mateos-Rodríguez, 2010). Além disso, tem sido associada com diversas enfermidades em aves, tais como a colibacilose causada por cepas de *Escherichia coli* patogênica para aves (APEC), uma das principais doenças que levam à perdas econômicas na avicultura industrial (Pilati et al., 2024), além de cepas de *Salmonella* e *Campylobacter* representarem uma ameaça para a segurança alimentar (Shang et al., 2023).

As enterobactérias são reconhecidamente capazes de causar doença no homem e em outros animais, sendo responsáveis por inúmeras infecções hospitalares (infecções urinárias, sepse, entre outras) e intestinais em muitos países (Kaper et al., 2004; Ewers et al., 2010).

Medidas de prevenção e controle, como programas de biossegurança, são importantes na produção avícola e atuam em prol do controle de riscos em toda a cadeia produtiva, assegurando o bem-estar animal e a oferta de alimentos seguros (Teixeira, Teixeira, 2021). No entanto, o uso de diversas classes de antimicrobianos para o tratamento de possíveis infecções ou a utilização de antimicrobianos como melhoradores de desempenho tem contribuído para o aparecimento de cepas bacterianas resistentes (Bezerra et al., 2017) e de cepas produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) (Dame-Korevaar et al., 2019), tornando uma grande preocupação em termos de saúde única.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos e a presença de cepas produtoras de ESBL em enterobactérias isoladas de swab cloacal de frangos de corte em diferentes produtores classificados de acordo com o desempenho zootécnico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 POPULAÇÃO E LOCAL DO ESTUDO

Foram colhidas 20 amostras de swab cloacal de frangos de corte com idade variando entre 23 e 34 dias, oriundos de

aviários localizados na região noroeste do estado do Paraná após aprovação no Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA), da Universidade Paranaense, protocolo 36987/2020. A amostragem foi feita em aviários com histórico de bons resultados de conversão alimentar (baixa) (produtores classe A, n=10) e aviários com resultados de conversão alimentar ruim (alta) (produtores classe B, n=10). Cada amostra foi formada por um pool de 20 swabs, totalizando 400 animais amostrados.

2.2 COLHEITA DAS AMOSTRAS

A colheita foi realizada por meio do uso de um swab umedecido no meio *Brain Heart Infusion* (BHI), o qual foi introduzido na cloaca da ave, comprimindo-o com movimentos rotatórios. Após colheita, as amostras foram acondicionadas em sacos estéreis contendo 60 mL de BHI e mantidas refrigeradas até envio ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense (UNIPAR) para processamento.

2.3 TESTES IN VITRO

2.3.1 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS ISOLADOS BACTERIANOS

No laboratório, as amostras em meio BHI foram incubadas em estufa microbiológica por 24 horas a 37°C. Posteriormente, foram semeadas em placas contendo ágar *MacConkey*, para isolamento de colônias puras. A identificação das enterobactérias foi feita com base nas características morfológicas e bioquímicas de acordo com Quinn et al. (1999) para enterobactérias. Para identificar as colônias, as mesmas foram semeadas em cinco tubos de meios de cultura que compõem o kit para enterobactérias (*Lisina Iron Agar*, *Citrato de Simmons*, meio MIO (Motilidade, Indol, Ornitina), TSI (Tríplice Açúcar Ferro) e ureia), que foram incubadas à 37°C por 24 horas para posterior identificação.

2.3.2 TESTE DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

Para a determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, foi utilizado o teste de difusão em disco em ágar segundo recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2020). Para isso, o inoculo foi preparado por suspensão direta em meio BHI de colônias isoladas selecionadas da placa de ágar *MacConkey* após crescimento por um período de 18-24 horas, ajustando a suspensão para a concentração bacteriana conforme a turbidez de 0,5 da escala de *McFarland* que corresponde a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC por mL (CLSI, 2020). Em seguida, um swab estéril foi mergulhado na suspensão e inoculado na superfície da placa de ágar *Müller-Hinton*, esfregando o swab em toda a superfície estéril do ágar, com o objetivo de assegurar a distribuição uniforme do inoculo na placa, repetindo-se o procedimento outras duas vezes, girando a placa aproximadamente 60° cada vez (CLSI, 2020).

Foram testados 14 antimicrobianos das seguintes classes: beta-lactâmicos: aztreonam (ATM), cefalotina (CEF), ceftriaxona (CRO), cefotaxima (CTX), ceftazidima (CAZ), amoxicilina (AMO) e amoxicilina + clavulanato (AMC); quinolonas: ácido nalidíxico (NAL), ciprofloxacino (CIP), enrofloxacino (ENO) (uso exclusivo veterinário), e norfloxacino (NOR); aminoglicosídeos: gentamicina (GEN); sulfonamidas: sulfazotrim (SUT) e tetraciclina (TET).

Todos os discos de antimicrobianos avaliados foram colocados em placas de petri 140 x 15 e incubados a 37° C (CLSI, 2020). Após um período de 18 a 24 horas de incubação, os halos foram medidos em milímetros usando um paquímetro na parte de trás da placa de *petri* invertida. Os diâmetros do halo de inibição foram interpretados conforme critério estabelecido pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* - BrCAST (2022), com exceção dos antimicrobianos enrofloxacina e ácido nalidíxico os quais foram interpretados conforme critério do CLSI (2020) (aves) e CLSI (2018), respectivamente. Todas as cepas classificadas como intermediário foram consideradas como não suscetíveis (Carvalho et al., 2020).

A determinação da presença de cepas com perfil de multirresistência aos antimicrobianos (PMR) foi feito quando uma bactéria se apresentou não suscetível à pelo menos um antimicrobiano em três ou mais categorias, conforme descrito por Schwarz et al. (2010). Além disso, foi calculado o Índice de Resistência Múltipla aos Antimicrobianos (IRMA) conforme metodologia descrita por Krumperman (1983), o qual é determinado pela relação entre o número de antimicrobianos que a amostra é resistente e o número total de antimicrobianos testados, sendo que índices superiores a 0,2 indicam multirresistência.

2.3.3 ENSAIO FENOTÍPICO PARA DETECÇÃO DE CEPAS PRODUTORAS DE ESBL

Para avaliar a presença de cepas produtoras de ESBL, foi utilizado o teste sinérgico do duplo disco, no qual discos contendo cefotaxima (CTX), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO) e aztreonam (ATM) foram distribuídos a uma distância

de 20 mm de um disco contendo amoxicilina/ácido clavulânico, onde qualquer aumento/distorção da zona de inibição de um dos antimicrobianos em direção ao disco de amoxicilina + ácido clavulânico foi considerado sugestivo da produção de ESBL (Brun-Buisson et al., 1987).

2.3.4 ANÁLISE MOLECULAR DA PRESENÇA DE GENES DE RESISTÊNCIA ÀS CEFALOSPORINAS OU ESBL

O DNA das amostras foi extraído por fervura a 100°C por 10 minutos, seguido de centrifugação e retirada do sobrenadante para pesquisa de genes *bla*_{CTX}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} (Woodford et al., 2005, Jouini et al., 2007, Dallenne et al., 2010) (Tabela 1). A PCR foi realizada utilizando *Promega PCR Master Mix* (Promega, USA) e o material amplificado foi visualizado em gel de agarose a 1,5%, corado com Gel Red (Biotium). Os resultados positivos apresentaram uma banda amplificada na altura do par de base (Pb) na amostra.

Tabela 1 - *Primers* utilizados para amplificação e sequenciamento do DNA para pesquisa de genes ESBL

Gene	Pb	Sequência de oligonucleotídeos (5' a 3')	Referência
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	415	F- AAA AAT CAC TGC GCC AGT TC R- AGC TTA TTC ATC GCC ACG TT	
<i>bla</i> _{CTX-M-2}	552	F- CGA CGC TAC CCC TGC TAT T R- CCA GCG TCA GAT TTT TCA GG	
<i>bla</i> _{CTX-M-8}	666	F- TCG CGT TAA GCG GAT GAT GC R- AAC CCA CGA TGT GGG TAG C	Woodford; Fagan & Ellington (2005)
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	205	F- CAA AGA GAG TGC AAC GGA TG R- ATT GGA AAG CGT TCA TCA CC	
<i>bla</i> _{CTX-M25}	327	F- GCA CGA TGA CAT TCG GG R- AAC CCA CGA TGT GGG TAG C	
<i>bla</i> _{TEM}	800	F- CAT TTC CGT GTC GCC CTT ATT C R- CGT TCA TCC ATA GTT GCC TGA C	Dallenne et al. (2010)
<i>bla</i> _{SHV}	713	F- CAC TCA AGG ATG TAT TGT G R- TTA GCG TTG CCA GTG CTC G	Jouini et al. (2007)

Pb: Pares de bases

Fonte: Organização dos autores.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi feita a estatística descritiva dos dados por meio da determinação da frequência absoluta (n) e relativa (%) dos resultados do perfil de resistência aos antimicrobianos frente às enterobactérias isoladas de produtores classificados como A e B. A presença de associação entre perfil de resistência aos diferentes antimicrobianos avaliados e origem do produtor (A ou B), perfil ESBL (sim ou não) e perfil de multirresistência (sim ou não) foram avaliados por meio do teste Exato de Fisher considerando nível de significância de 5%. A análise dos dados foi feita no programa estatístico Bioestat 5.3 (Ayres et al., 2007).

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total das 20 amostras coletadas, os testes bioquímicos para a identificação de enterobactérias permitiram a identificação de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter aerogenes*. Nove (90%) isolados identificados como *E. coli* foram oriundos de amostras de produtores classificados como A (bom resultado zootécnico) e oito (80%) de produtores classificados como classe B (baixo resultado zootécnico).

Uma (10%) cepa de *P. mirabilis* foi identificada em amostras de produtores classe A e outros dois isolados (20%) de produtores classe B identificadas como *Enterobacter aerogenes*.

O perfil de sensibilidade aos antimicrobianos demonstrou que apenas um isolado de *E. coli* (ID 6, produtor classificado como A) foi suscetível a todos os antimicrobianos testados (Tabela 1), sendo que 55% (11/20) dos isolados foram resistentes a três ou mais antimicrobianos, apresentando perfil MDR.

Altas taxas de resistência a diferentes antimicrobianos em isolados de *E. coli* estão descritos na literatura (Aslantas, 2020; Carvalho, et al., 2020; Schmiedt, 2021), assim como, o elevado percentual de resistência para amoxicilina foi encontrado por Mohamed, Shehata & Rafeek (2014), visto que dos 25 isolados de *E. coli* oriundos de swab cloacal

de aves saudáveis, 100% apresentaram resistência ao antimicrobiano.

Em trabalho realizado por Ibrahim et al. (2019), o perfil de resistência foi avaliado em cepas de *E. coli* isoladas de frangos de corte após a identificação do genótipo de patogenicidade e os autores encontraram alta taxa de resistência a amoxicilina (93,3%).

Romero-Barrios et al. (2020) também detectaram perfil de multirresistência visto que 20% dos isolados de *E. coli* oriundos de frangos de corte foram resistentes a quatro ou cinco classes de antimicrobianos.

Quando comparados o perfil de resistência dos produtores classe A e classe B, é possível observar que as cepas isoladas de produtores classe B apresentaram maior perfil de resistência (resistência entre três a 14 antimicrobianos) quando comparados com os isolados oriundos classe A (zero a 13 antimicrobianos) (Tabela 2).

Tabela 2: Caracterização das enterobactérias isoladas da cloaca de frangos de corte de produtores classificados como A (bom desempenho zootécnico) e B (baixo desempenho zootécnico) em relação à espécie, antimicrobianos resistentes, perfil de multirresistência (PMR) e perfil ESBL (Beta-lactamase de Espectro Estendido)

ID Produtor	Bactéria	Resistência B-lactâmicos	Resistência outros antimicrobianos	PMR	ESBL
1 A	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, AMC, CTX, CRO	NAL, GEN, TET, SUT	Sim	Não
2 A	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, CTX, CRO	CIP, ENO, NAL, NOR, GEN, TET, SUT	Sim	Não
3 A	<i>P. mirabilis</i>	AMO	---	Não	Não
4 A	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, CTX, ATM, CRO	---	Não	Sim
5 A	<i>E. coli</i>	CEF, AMO	TET, SUT	Sim	Sim
6 A	<i>E. coli</i>	---	---	Não	Não
7 A	<i>E. coli</i>	AMO	---	Não	Não
8 A	<i>E. coli</i>	CEF	GEN	Não	Não
9 A	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, AMC, CTX, CAZ, ATM, CRO	CIP, ENO, NAL, NOR, TET, SUT	Sim	Sim
10 A	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, CTX, CAZ, ATM, CRO	GEN	Não	Sim
11 B	<i>E. coli</i>	CEF, AMO	TET	Não	Sim
12 B	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, CTX, CRO	GEN, TET, SUT	Sim	Não
13 B	<i>E. aerogenes</i>	AMO	TET, SUT	Sim	Não
14 B	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, AMC, CTX, CAZ, ATM, CRO	CIP, ENO, NAL, NOR, GEN, TET, SUT	Sim	Sim
15 B	<i>E. aerogenes</i>	CEF, AMO, CRO	TET	Não	Não
16 B	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, CTX, CRO	---	Não	Sim
17 B	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, AMC	CIP, ENO, NAL, NOR, GEN	Sim	Não
18 B	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, AMC, CTX, CAZ, ATM, CRO	ENO, NAL, NOR, GEN, TET	Sim	Sim
19 B	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, CTX, CRO	CIP, ENO, NAL, NOR, GEN, TET, SUT	Sim	Sim
20 B	<i>E. coli</i>	CEF, AMO, CTX, CAZ, ATM, CRO	CIP, ENO, NAL, NOR, TET	Sim	Não

ATM: Aztreonam; AMC: Amoxicilina + clavulanato; AMO: Amoxicilina; CAZ: Ceftazidima; CEF: Cefalotina; CIP: Ciprofloxacina; CRO: Ceftriaxona; CTX: Cefotaxima; ENO: Enrofloxacin; GEN: Gentamicina; NAL: Ácido nalidíxico; NOR: Norfloxacin; SUT: Sulfa+trimetoprim; TET: Tetraciclina. A: Produtor com bom desempenho zootécnico; B: Produtor com baixo desempenho zootécnico.

ID: identificação

Ao se analisar estatisticamente o perfil de multirresistência por meio da determinação do Índice de Resistência Múltipla aos Antimicrobianos (IRMA), verificou-se comportamento semelhante ($P>0,05$) para os produtores classe A e classe B, visto que as cepas de *E. coli* apresentaram respectivamente média de 0,66 e 0,49, para os produtores classe A e classe B. Cardoso et al. (2019) determinaram o IRMA das cepas de *E. coli*, isoladas de aves comerciais e encontraram 78,9% dos isolados índices variando de 0,25 a 0,90 indicando perfil de multirresistência ($IRMA>0,2$).

A análise estatística dos dados dos resultados do perfil de resistência aos antimicrobianos, multirresistência e ESBL das cepas de *E. coli* isoladas em relação à classificação do produtor (Tabela 3), não demonstrou haver diferenças ($P>0,05$).

Tabela 3. Frequência absoluta (n) e relativa (%) do percentual de resistência aos antimicrobianos, perfil de multirresistência (PMR) e perfil ESBL (Beta-lactamase de espectro estendido) de isolados de *E. coli* de produtores classificados como A (bom resultado zootécnico) e B (baixo resultado zootécnico)

Classe	Antimicrobiano	Percentual de resistência	
		Produtor classe A	Produtor classe B
Quinolonas	Ciprofloxacina*	2/9 (22,2%)	5/8 (62,5%)
	Enrofloxacina*	6/9 (66,7%)	6/8 (75,0%)
	Ac. Nalidixico*	5/9 (55,5%)	5/8 (62,5%)
	Norfloxacina*	2/9 (22,2%)	5/8 (62,5%)
Beta-lactâmicos	Cefalotina*	7/9 (77,8%)	8/8 (100%)
	Amoxiciclina*	7/9 (77,8%)	8/8 (100%)
	Amoxicilina+Clavulanato*	2/9 (22,2%)	3/8 (37,5%)
	Cefotaxima*	5/9 (55,5%)	6/8 (75,0%)
	Ceftazidima*	4/9 (44,4%)	4/8 (50,0%)
	Aztreonam*	4/9 (44,4%)	4/8 (50,0%)
	Ceftriaxona*	6/9 (66,7%)	7/8 (87,5%)
Outras	Sulfa+ trimetoprim*	4/9 (44,4%)	3/8 (37,5%)
	Tetraciclina*	4/9 (44,4%)	6/8 (75,0%)
	Gentamicina*	4/9 (44,4%)	5/8 (62,5%)
Perfil ESBL x produtor*		4/9 (44,4%)	5/8 (62,5%)
PMR x produtor*		5/9 (55,5%)	6/8 (75,0%)
Perfil ESBL x PMR*		2/4 (50,0%)	3/5 (60,0%)

* não significativo pelo teste Exato de Fisher ($P>0,05$)

As cepas de *E. coli* apresentaram maior percentual de resistência para a classe dos beta-lactâmicos em ambas as classes de produtores (A e B), com destaque para os antimicrobianos cefalotina, amoxicilina, ceftriaxona e cefotaxima.

Romero-Barríos et al. (2020) também encontraram maior resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos em isolados de *E. coli* oriundos de amostras de frangos de corte e produtos de frango cru processados em frigoríficos.

Em relação às quinolonas, a ciprofloxacina e a norfloxacina apresentaram menor perfil de resistência entre os isolados dos produtores classificados como A (22,2%) (Tabela 3). Por outro lado, os isolados de *E. coli* oriundos de produtores classificados como B apresentaram 62,5% de resistência para os mesmos antimicrobianos.

Nos testes para detecção das cepas produtoras de ESBL, 52,9% (9/17) das cepas de *E. coli* foram positivas para ESBL. De maneira similar, ao ser analisado se havia diferenças entre os produtores classificados como A e B em relação ao perfil ESBL e perfil de multirresistência, não foram encontradas diferenças ($P>0,05$) entre os produtores. Da mesma forma, não foi verificada associação entre perfil ESBL e PMR ($P>0,05$).

Salienta-se que os produtores classificados como A, apresentaram duas cepas de *E. coli* que apresentaram simultaneamente perfil de multirresistência e perfil ESBL. Já os produtores classificados como B apresentaram três cepas de *E. coli* classificadas simultaneamente com perfil de multirresistência e ESBL.

No presente trabalho apesar de não ter sido encontrado diferença estatística entre os produtores, os aviários classificados como B, ou seja, com piores resultados em

termos de conversão alimentar, podem apresentar maior isolamento de enterobactérias com perfil ESBL da cloaca dos frangos de corte em consequência de falhas de manejo ou associadas à deficiência estrutural, visto que diferentes condições ambientais, resultante de diferenças nas estruturas das instalações podem interferir na constituição da comunidade bacteriana (Dumas et al., 2011).

Em relação aos perfis de genes de resistência avaliados somente nas amostras ESBL positivas (n=9), verificou-se que em ambas as origens houve a detecção de quatro genes. No entanto, no produtor A houve predomínio dos genes bla_{CTX-M1} e bla_{SHV} . Enquanto no produtor B, maiores percentuais foram encontrados para bla_{CTX-M1} e bla_{CTX-M2} (Tabela 4). Salienta-se que nenhum isolado apresentou os genes bla_{CTX-M9} e $bla_{CTX-M25}$.

Tabela 4. Perfil dos genes de resistência ESBL das cepas de *E. coli* obtidas de amostras de swab cloacal de frangos de corte de produtores classificados como A (bom resultado zootécnico) e B (baixo resultado zootécnico).

ID	Perfil de genes						
	bla_{CTX-M1}	bla_{CTX-M2}	bla_{CTX-M8}	bla_{CTX-M9}	$bla_{CTX-M25}$	bla_{SHV}	bla_{TEM}
4A	+	+	-	-	-	+	-
5A	+	-	-	-	-	-	-
9A	+	-	-	-	-	+	+
10A	+	+	-	-	-	+	+
% total	100%	50%	-	-	-	75%	50%
11B	-	+	+	-	-	-	+
14B	-	+	+	-	-	-	+
16B	+	+	-	-	-	-	-
18B	+	-	-	-	-	-	-
19B	+	-	-	-	-	-	-
% total	60%	60%	40%	-	-	-	40%

ID: Identificação

Lemlem et al. (2023) avaliando a presença de genes ESBL em cepas de *E. coli* isoladas da cloaca de frangos de corte de granjas na Malásia, verificaram que 62,9% e 45,4% dos isolados apresentaram respectivamente os genes bla_{CTX-M} e bla_{TEM} , ressaltando que a presença de genes ESBL em aves aparentemente saudáveis, demonstra o papel dos animais de produção na disseminação da resistência antimicrobiana e o seu potencial risco para a saúde pública.

De maneira similar Wibisono et al. (2020) avaliando a presença do gene bla_{CTX-M} em cepas de *E. coli* isoladas de swab cloacal de frangos de corte no distrito de Blitar, Indonésia verificaram que dos isolados ESBL positivos (46/160; 28,75%) um total de 45 (97,8%) foi detectado o gene bla_{CTX-M} .

No presente trabalho, a avaliação da presença de diferentes genes relacionados com a resistência ao β -lactâmicos, em produtores classificados como A (bom desempenho zootécnico) e B (baixo desempenho zootécnico)

demonstrou variações relacionados ao gene detectado (Tabela 4), no entanto, é possível observar que na grande maioria foi possível detectar a presença concomitante de três genes, com maior prevalência para os produtores classificados como de bom desempenho zootécnico, corroborando em parte com os resultados de Lemlem et al. (2023) no qual também detectaram alto percentual de presença de genes bla_{CTX-M} em frangos aparentemente saudáveis.

2.6 CONCLUSÃO

Nas condições em que a pesquisa foi desenvolvida, foi verificado que as cepas de enterobactérias apresentaram numericamente maior resistência para antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos. Por outro lado, não foram identificadas associações entre o perfil de multiresistência e

perfil ESBL em relação à classificação do produtor (A ou B) em relação ao desempenho zootécnico (conversão alimentar). No entanto, em todas as cepas de *E. coli* com perfil ESBL identificadas pelo método fenotípico, foi possível isolar ao menos um gene, com predomínio para o gene *bla*_{CTX-M-1}.

REFERÊNCIAS

- ABPA (2024, setembro 8). Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório anual 2024. <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-vf.pdf>.
- Amaral, A. G., Yanagi Júnior, T., Lima, R. R., Teixeira, V. H. & Schiassi, L. (2011). Efeito do ambiente de produção sobre frangos de corte sexados criados em galpão comercial. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63, 649-658. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352011000300017>
- Andrade, L., & Freitas, E. S. (2018). Efeitos da densidade populacional sobre o desempenho produtivo de frangos de corte em diferentes tipos de aviário. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG*, 1 (1), 185-192. <https://ojsrevistas.fag.edu.br/index.php/ABMVFAG/article/download/264/356>
- Aslantaş, Ö. (2020). High occurrence of CMY-2-type beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among broiler flocks in Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 52(4), 1681-1689. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-02167-8>
- Ayres, M., Ayres Júnior, M., Ayres, D. L., & Santos, A. A. S. (2007). Bioestat. *Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas*. Instituto Mamirauá. <https://mamiraua.org.br/downloads/programas/>
- Bezerra, W.G.A., Horn, R.H., Silva, R.S.C., Teixeira, E.S., Lopes, Á.H., & Albuquerque, W.C. (2017). Antibióticos no setor avícola: uma revisão sobre a resistência microbiana. *Archivos de Zootecnia*, 66(254), 301-307. <https://doi.org/10.21071/az.v66i254.2335>
- BrCAST. (2022, setembro 12) *Tabela de pontos de corte clínicos BrCAST*. Site Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos. <https://brcast.org.br/documentos/documentos>
- Brun-Buisson C., Legrand P., Philippon A., Montravers F., Ansker M., & Duval J. (1987). Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *The Lancet*, 330 (8554), 302-306. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(87\)90891-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)90891-9).
- Cardoso, A. L. S. P., Tessari, E. N. C., Luciano, R. L., Zanatta, G. F., & Kanashiro, A. M. I. (2019) Resistência antimicrobiana de *Escherichia Coli* isolada de aves comerciais. *Biológico*, 81(1), 1-8. <https://doi.org/10.31368/1980-6221v81a10013>
- Carvalho, D., Kunert-Filho, H. C., Simoni, C., Moraes, L. B., Furian, T. Q., Borges, K. a., Breunig, J. G., Medeiros, L. P., Kobayashi, R. K. T., Brito, K. C. T., & Brito, B. G. (2020). Antimicrobial susceptibility and detection of virulence-associated genes of *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* isolated from domestic pigeons (*Columba livia*) in Brazil. *Folia Microbiologica*, 65(4), 735-745, <https://doi.org/10.1007/s12223-020-00781-w>
- CLSI (2024, setembro 8). Clinical And Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement, M100. <https://clsi.org/>
- Dallenne, C., Costa, A., Decré, D., Favier, C., & Arlet, G. (2010). Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β lactamases in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(3), 490-495. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp498>
- Dalólio, F. S., Moreira, J., Valadares, R. L., Nunes, P. B., Vaz, P. D., Pereira, H. J., Pires A. V., & Cruz, P. J. R. (2015). Aditivos alternativos ao uso de antimicrobianos na alimentação de frangos de corte. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, 5(1), 86-94. <https://doi.org/10.21206/rbas.v5i1.281>
- Dame-Korevaar, A., Fischer, E. A. J., Goot, J. V. D., Stegeman, A., & Mevius, D. (2019). Transmission routes of ESBL/pAmpC producing bacteria in the broiler production pyramid, a literature review. *Preventive veterinary medicine*, 162, 136-150. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.12.002>

- Dumas, M. D., Polson, W. S., Ritter, D., Ravel, J., Gelb, J., Morgan, R., Wommack, K. E., (2011). Impacts of poultry house environment on poultry litter bacterial community composition. *PLoS One*, 6(9), 24785. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024785>
- EMBRAPA (2022, setembro 12) Aves e Suínos. Central da inteligência aves e suínos, preço. <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/precos>.
- Ewers, C., Grobbel, M., Stamm, I., Kopp, A. P., Diehl, I., Semmler, T., Fruth, A., Beutlich, J., Guerra, B., Wieler, H. L., & Guenther, S. (2010). Emergence of human pandemic O25: H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(4), 651-660. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq004>.
- Figueiredo, A. M., Santos, P. A., Santolin, R., & Reis, B. S. (2006). Integração na criação de frangos de corte na microrregião de Viçosa - MG: viabilidade econômica e análise de risco. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, 44, 713-730. <http://doi.org/10.1590/S0103-20032006000400005>
- Garcia, D. T. (2019). Nível de contaminação por micro-organismos indicadores e *Salmonella spp.* em carcaças de frangos de diferentes tipos de criação em pontos distintos do abate. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia. <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.5604>
- Ibrahim, R. A., Cryer, T. L., Lafi, S. Q., Basha, E. A., Bom. L., & Tarazi, Y. H. (2019). Identification of *Escherichia coli* from broiler chickens in Jordan, their antimicrobial resistance, gene characterization and the associated risk factors. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1901-1>
- Jouini, A., Vinué, L., Slama, K. B., Sáenz, Y., Klibi, N., Hammami, S., Boudabous, A., & Torres, C. (2007). Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum β -lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunisia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(5), 1137-1141. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm316>
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T., (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2) 123-140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Krumperman, P. H. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia Coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied And Environmental Microbiology*, 46(1), 165-170. <https://doi.org/10.1128/aem.46.1.165-170.1983>
- Lemlem, M., Aklilu, E., Mohammed, M., Kamaruzzaman, F., Zakaria, Z., Harun, A., & Devan, S. S. (2023). Detecção molecular e perfis de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* produtora de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) em granjas de frangos de corte na Malásia. *Revista Plos One*, 1(1) 1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285743>
- Mohamed, M. A.; Shehata, M. A.; Rafeek, E. (2014). Virulence genes content and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from broiler chickens. *Veterinary Medicine International*, 2014, e195189. <https://doi.org/10.1155/2014/195189>.
- Pilati, G. V. T., Salles, G. B. C., Savi, B. P., Dahmer, M., Muniz, E. C., Filho, V. B., Elois, M. A., Souza, D. S. M., Fongaro, G. (2024). Isolation and Characterization of *Escherichia coli* from Brazilian Broilers. *Microorganisms*, 12 (7): 1463. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071463>
- Puerta-García, A., & Mateos-Rodríguez, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10 (51), 3426-3431.
- Quinn, P. J.; Carter, M. E.; Markey, B.; Carter, G. R. *Clinical veterinary microbiology*. New York: Mosby. 1999. 646p.
- Rodrigues, W. O. P. (2014). Cadeia produtiva do frango de corte no estado de mato grosso do sul: uma análise de mercado. Mestrado em Agronegócios. Programa de Pós-graduação em Agronegócios. <http://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/handle/prefix/696>
- Romero-Barrios, P., Deckert, A., Parmley, D. J., & Leclair, D. (2020). Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates in Canadian broiler chickens and their products. *Foodborne Pathogens and Disease*, 17 (11), 672-678. doi: <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2776>.

- Schmiedt, J. A. (2021). Caracterização do perfil fenotípico e genotípico de resistência a antimicrobianos de isolados de *Escherichia coli* em uma cadeia produtiva de frango de corte. <https://hdl.handle.net/1884/71882>
- Schwarz, S., Silley P., Simjee, J., Woodford, N., Van Duijkeren, E., Johson, A. P., & Gaastra, W. (2010). Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65 (4), 601-604. <https://doi.org/10.1016/j.jvetmic.2009.12.013>
- Sens, R. Eficiência alimentar em frangos de corte, o que podemos melhorar? (2018). <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/181858/1/final8835.pdf>
- Shang, K., Kim, J. H., Park, J. Y., Choi, Y. R., Kim, S. W., Cha, S. Y., Jang, H. K., Wei, B., Kang, M. (2023). Comparative studies of antimicrobial resistance in *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Campylobacter* isolates from broiler chickens with and without use of enrofloxacin. *Foods*, 12 (11), 2239. <https://doi.org/10.3390/foods12112239>
- Souza, S. V., Gandra, E. R. S., Reis Neto, J. F., & Garcia, R. G. (2021). Fatores críticos de sucesso na produção de frango de corte a partir da percepção do produtor integrado da região da Grande Dourados/MS. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, 59(3), e226679. <https://doi.org/10.1590/1806-9479.2021.226679>
- Teixeira, E. S. M., & Teixeira, M. J. (2021). Importância da carne de frango brasileira no mercado mundial. <https://fateclog.com.br/anais/2021/94-86-1-RV.pdf>
- Talamini, D. J. D., & Martins, F. M. (2021). Panorama da avicultura e do mercado de carnes. *Avicultura Industrial*, 10, 20-27.
- USDA - United States Department of Agriculture. Foreign agricultural service. Required - Public Distribution, Poultry and Products Annual, Brasília, pg 15, BR2021-0033, 2021. Disponível em: <DownloadReportByFileName (usda.gov)>.
- Wibisono, F. J., Sumiarto, B., Untari, T., Effendi, M. H., Permatsari, D. A., & Witaningrum, A. M. (2020). Pattern of antibiotic resistance on extended-spectrum beta-lactamases genes producing *Escherichia coli* on laying hens in Blitar, Indonesia. *Biodiversitas*, 21 (10), 4631-4635. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211022>
- Woodford, N., Fagan, E. J., & Ellington, M. J. (2006). Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum β -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57 (1), 154-155. <https://doi.org/10.1093/jac/dki412>