

NAYLA KELLEN DE OLIVEIRA VENTURA

**RESISTÊNCIA À COLISTINA E AOS β -LACTÂMICOS EM ISOLADOS DE
Escherichia coli ORIUNDOS DE BOVINOS, SUÍNOS E HUMANOS DE UM
ABATEDOURO MISTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Ricardo Seiti Yamatogi

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

V468r
2022
Ventura, Nayla Kellen de Oliveira, 1994-
Resistência à colistina e aos β -lactâmicos em isolados de
Escherichia coli oriundos de bovinos, suínos e humanos de um
abatedouro misto / Nayla Kellen de Oliveira Ventura. – Viçosa,
MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (58 f.): il.

Orientador: Ricardo Seiti Yamatogi.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Veterinária, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.629>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Agentes antinfeciosos. 2. Colistina. 3. Saúde pública. 4.
Escherichia coli - Genética. I. Yamatogi, Ricardo Seiti , 1981-
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 615.329

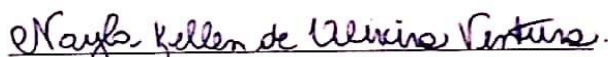
NAYLA KELLEN DE OLIVEIRA VENTURA

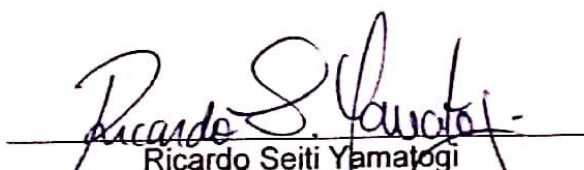
**RESISTÊNCIA À COLISTINA E AOS β -LACTÂMICOS EM ISOLADOS DE
Escherichia coli ORIUNDOS DE BOVINOS, SUÍNOS E HUMANOS DE UM
ABATEDOURO MISTO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 21 de julho de 2022.

Assentimento:


Nayla Kellen de Oliveira Ventura
Autora


Ricardo Seiti Yamatogi
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus, à Nossa Senhora Aparecida e a todos os anjos que me abençoaram nesse caminho e mantiveram minha fé inabalável.

Aos meus pais, minha vó e meu irmão. Razão de tudo. Por eles, tudo. Palavras nunca serão suficientes para expressar meu amor, carinho, admiração e gratidão! Obrigada por acreditarem em mim. Sem o apoio de vocês, viver esse sonho não seria possível.

Ao professor Ricardo, que além de um orientador, foi também uma figura de inspiração para mim. É fácil acreditar que a Educação muda o mundo quando ela depende de pessoas como ele.

Ao professor Nero, pela orientação, incentivo e apoio durante esse processo de muito aprendizado.

A todos os técnicos e companheiros de laboratório; aos estagiários, alunos de iniciação científica e colegas de pós-graduação, que contribuíram para que essa jornada fosse ainda mais leve e feliz. Um agradecimento especial à Flaviana; amiga para toda vida!

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

VENTURA, Nayla Kellen de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2022. **Resistência à colistina e aos β -lactâmicos em isolados de *Escherichia coli* oriundos de bovinos, suínos e humanos de um abatedouro misto.** Orientador: Ricardo Seiti Yamatogi.

Muitas bactérias, como *Escherichia coli*, apresentam com frequência genes de resistência a antibióticos considerados como a última opção disponível, comprometendo a eficácia do tratamento. Pelo fato da resistência antimicrobiana ser uma questão de Saúde Única, que integra animais, homens e meio ambiente, o objetivo deste trabalho foi investigar o perfil de resistência à colistina e aos β -lactâmicos em isolados de *Escherichia coli* oriundos de bovinos (n=106), suínos (n=100) e trabalhadores (n=29) de um abatedouro misto. Foram realizados testes fenotípicos de microdiluição e disco difusão para a avaliação da resistência à colistina e aos β -lactâmicos (ampicilina, amoxicilina, cefazolina, cefaclor, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime, imipenem, meropenem, aztreonam), respectivamente. Através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada a pesquisa por genes de resistência à colistina (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5*) e aos β -lactâmicos (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *ampC*). Os isolados de suínos apresentaram maior resistência à colistina (13%) que os de bovinos (4,7%); mesmo que nenhum gene *mcr* tenha sido identificado. Em relação aos β -lactâmicos, os isolados provenientes de animais e humanos apresentaram maior frequência de resistência para ampicilina e amoxicilina, em ambos. Um isolado de suíno apresentou-se como produtor de ESBL (β -lactamase de espectro estendido). Nenhum isolado de bovino apresentou qualquer gene de resistência, 67% dos suínos e 24,14% dos humanos apresentaram o gene *bla*_{TEM} e apenas um isolado de suíno apresentou o gene *ampC*. A resistência antimicrobiana e os genes de resistência detectados em *E. coli* deste estudo são motivos de alerta. Para combater tal ameaça à saúde pública é necessário que estratégias sejam adotadas para compreender e controlar os mecanismos de resistência envolvidos na cadeia de produção dos alimentos de origem animal.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana. Saúde Única. Genes *bla*. Genes *mcr*.

ABSTRACT

VENTURA, Nayla Kellen de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2022. **Resistance to colistin and β -lactam in *Escherichia coli* isolates from bovine, swine and humans from a mixed slaughterhouse.** Adviser: Ricardo Seiti Yamatogi.

Many bacteria, such as *Escherichia coli*, often present antibiotic resistance genes considered as the last available option, compromising the effectiveness of treatment. As antimicrobial resistance is an One Health issue, which integrates animals, humans and the environment, the aim of this study was to investigate the resistance profile of colistin and β -lactams in *Escherichia coli* isolates from cattle (n=106), swine (n=100) and workers (n=29) of a mixed slaughterhouse. Phenotypic tests; broth microdilution and disc diffusion, were performed to evaluate colistin and β -lactams (ampicillin, amoxicillin, cefazolin, cefaclor, cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, cefepime, imipenem, meropenem, aztreonam) resistance, respectively. Using the polymerase chain reaction (PCR) technique, resistance genes to colistin (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5*) and to β -lactams (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *ampC*) were screened. Swine isolates showed greater resistance to colistin (13%) than bovine isolates (4.7%); even though no *mcr* gene has been identified. Regarding β -lactams, isolates from animals and humans showed higher frequency of resistance to ampicillin and amoxicillin. One swine isolate was classified as ESBL producer (extended spectrum β -lactamase), in both. No bovine isolate showed any resistance gene, *bla*_{TEM} was detected in 67% of pigs and 24.14% of humans isolates and *ampC* in a swine isolate only. The antimicrobial resistance and resistance genes detected in *E. coli* in this study are an alarming situation. To combat this threat to public health strategies must be adopted to understand and control the resistance mechanisms involved in the production chain of food of animal origin.

Keywords: Antimicrobial resistance. One Health. *bla* genes. *mcr* genes.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Iniciadores, tamanho do produto e temperatura de anelamento dos genes de resistência à colistina e aos β -lactâmicos investigados.....42

Tabela 2 - Resistência aos princípios ativos testados do grupo dos β -lactâmicos e ao sulfato de colistina em isolados de *Escherichia coli* de origem bovina, suína e humana.44

Tabela 3 - Perfis de resistência em isolados de *Escherichia coli* de origem bovina, suína e humana testados contra a β -lactâmicos e ao sulfato de colistina.....44

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	8
CAPÍTULO 1. Revisão Bibliográfica.....	10
1. <i>Escherichia coli</i>	11
2. A cadeia produtiva de carne suína e bovina e sua associação com a resistência antimicrobiana.....	12
3. A resistência antimicrobiana em <i>Escherichia coli</i> e as principais classes de antibióticos utilizadas nas cadeias produtivas de alimentos no cenário mundial e nacional.....	15
4. Colistina e mecanismos de resistência	19
5. β -lactâmicos e mecanismos de resistência	22
REFERÊNCIAS.....	28
OBJETIVOS	36
CAPÍTULO 2. Resistência à colistina e aos β -lactâmicos em isolados de <i>Escherichia coli</i> oriundos de bovinos, suínos e humanos de um abatedouro misto.....	37
RESUMO.....	38
1. Introdução.....	39
2. Materiais e métodos.....	40
2.1 Teste fenotípico para resistência à colistina dos isolados de <i>Escherichia coli</i> - Concentração Inibitória Mínima.....	40
2.2 Teste fenotípico para resistência aos β -lactâmicos dos isolados de <i>Escherichia coli</i> – Disco difusão	41
2.3 Pesquisa dos genes para colistina e β - lactâmicos	42
3. Resultados.....	43
4. Discussão	45
5. Conclusão.....	49
6. Agradecimentos.....	50
REFERÊNCIAS.....	51

INTRODUÇÃO GERAL

O uso indiscriminado de antibióticos na medicina humana para o tratamento de infecções, bem como na medicina veterinária, nas cadeias produtivas, tem provocado o aumento no número de bactérias resistentes a diversos tipos de antibióticos em todo o mundo (Luo et al., 2020). O resultado dessa pressão seletiva e da disseminação de resistência antimicrobiana em bactérias de vários gêneros pode culminar em uma era pós-antibiótica, em que infecções comuns até doenças mais graves não serão mais tratáveis (Barlaam et al., 2019). Estima-se que em 2050 a resistência antimicrobiana seja responsável por 10 milhões de mortes por ano (Luo et al., 2020).

A exemplo de bactérias que apresentam resistência a diversos tipos de antibióticos tem-se *Escherichia coli*. A disseminação de Bactérias Gram-negativas Multirresistentes (BGNMR), associada à redução da descoberta de novos agentes antimicrobianos, motivou a retomada de antibióticos, como a colistina. Na década de 1970 e início da década de 1980 a colistina teve seu uso reduzido por conta de seus efeitos colaterais, mas nas duas últimas décadas passou a ser considerada como tratamento de último recurso contra infecções causadas por BGNMR (Trimble et al., 2016; Tacconelli et al., 2018; Barlaam et al., 2019).

Além disso, outra classe de antimicrobianos que merece destaque é a dos β -lactâmicos, a classe mais numerosa de antibióticos e a mais efetiva para o tratamento de infecções em humanos devido a várias características, como seu amplo espectro de atividade, baixa toxicidade e atividade bactericida (Foster, 2019; Lakshmi et al., 2014).

Esses antibióticos também são muito utilizados na medicina veterinária, não só de modo terapêutico, mas também como promotor de crescimento, entretanto, seu uso indevido e em doses subterapêuticas, não só compromete a eficácia terapêutica desses antibióticos como contribui para o surgimento e disseminação de microrganismos resistentes (Cho et al., 2012; Tamta et al., 2020).

Neste sentido, microrganismos resistentes são preocupantes, pois comprometem a saúde pública e a animal, já que podem apresentar mutações e carrear genes de resistência que podem ser transmitidos entre animais, humanos e

ambiente, de modo direto ou indireto; por meio dos alimentos de origem animal, por exemplo (Kumar et al., 2020; Rabello et al., 2020).

Assim, questões relacionadas à Saúde Única e temas como Resistência a antibióticos têm sido pesquisados para entender sua distribuição e qual o papel do ambiente, seres humanos e animais. Um estudo da resistência antimicrobiana nas diferentes cadeias produtivas de carne pode explicar possíveis rotas de disseminação da resistência, favorecendo a tomada de medidas preventivas.

CAPÍTULO 1. Revisão Bibliográfica

Nayla Kellen de Oliveira Ventura

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli é uma bactéria da família *Enterobacteriaceae*, um microrganismo Gram-Negativo, amplamente distribuído na natureza, que tem como seu principal habitat o trato intestinal de humanos e animais, podendo ser classificada em comensal ou patogênica (Barlaam et al., 2019; Hu et al., 2020).

As classificadas como comensais fazem parte da microbiota intestinal do hospedeiro sem causar infecções ou prejuízos (Hu et al., 2020). Dentre as patogênicas tem-se o grupo de *E. coli* diarreio gênicas que são classificadas de acordo como seu fator de virulência e mecanismo de ação. Este grupo é composto por *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* difusamente aderente (DAEC). Já entre as extraintestinais podem ser citadas *E. coli* uropatogênica (UPEC) e *E. coli* causadora de meningite neonatal (NMEC) (Croxen e Finlay, 2010).

Além disso, essa bactéria pode ser transmitida por contato com pessoas ou animais, ou por água e alimentos contaminados como, por exemplo, carne cru ou mal cozida, leite e produtos lácteos não pasteurizados e vegetais (Barlaam et al., 2019).

Entre os anos de 2012 a 2021, *E. coli* foi o agente etiológico mais identificado (29,6%) em surtos alimentares no Brasil, seguido por *Staphylococcus aureus* (12,9%) e *Salmonella* spp. (11,2%). Dos alimentos suspeitos identificados, a carne bovina in natura, seus produtos processados e miúdos corresponderam a 4,4% dos casos de surto, carne de ave in natura, processados e miúdos a 2,7%, pescados, frutos do mar e processados a 1,9% e carne suína in natura, processados e miúdos a 1,5% (Brasil, 2022).

Se tratando da indústria de alimentos, *Escherichia coli* é um microrganismo muito importante, pois está intrinsecamente relacionado com a higiene e procedência de um alimento seguro, já que se configura como um microrganismo indicador de contaminação fecal. Além disso, essa bactéria também funciona como um indicador

de resistência antimicrobiana, responsável pela disseminação de genes de resistência entre animais, humanos e ambiente (Barlaam et al., 2019).

Isso porque além do uso intenso de antimicrobianos para o tratamento e prevenção de doenças provocadas por tal bactéria, *E. coli* adquire com facilidade os genes de resistência de outras cepas de *E. coli* ou de outras bactérias presentes no trato intestinal, tornando-se uma fonte comum para genes de resistência. Deste modo, a vigilância de genes de resistência aos antimicrobianos em isolados de *E. coli* obtidos de fezes é uma tendência crescente nas pesquisas em todo o mundo (Hesp et al., 2022; Hu et al., 2020; Peng et al., 2021).

Além disso, muitas pesquisas são realizadas tomando essa bactéria como um biomarcador de contaminação ambiental, já que o contato direto das fezes dos homens e dos animais com o ambiente pode contaminar água e solos. Sua importância como biomarcador também se justifica por ser um microrganismo presente no trato intestinal dos animais e, deste modo, ser reflexo das condições a que esses animais são submetidos, como ração, aditivos e promotores de crescimento, além dos antibióticos (Brisola et al., 2019).

Por todos esses motivos, o monitoramento da resistência antimicrobiana em *E. coli* nos animais de produção funciona como um método de vigilância em relação a sua ameaça à saúde pública (Hesp et al., 2022; Peng et al., 2021). Como comentado, por ser uma bactéria comensal, presente no trato digestivo de humanos e animais, e por sua classificação como um dos patógenos que representa grande ameaça à saúde humana; configurando-se como uma fonte de troca de genes de resistência, *Escherichia coli* é frequentemente o microrganismo de eleição para a pesquisa de resistência antimicrobiana (Muloi et al., 2018; OMS, 2017a).

2. A cadeia produtiva de carne suína e bovina e sua associação com a resistência antimicrobiana

A carne suína e a carne bovina representam importantes fontes de proteína animal, e o Brasil exerce um importante papel nessa produção. Em 2021, o país foi o terceiro maior produtor de carne suína, produzindo 4,701 milhões de toneladas de

carne. A maior parte da produção do país (75,81%) é destinada ao mercado interno, e a média de consumo per capita anual é de 16,7 kg de carne. Em relação aos estados brasileiros, Minas Gerais é o quarto maior em relação ao número de abates inspecionados, ficando atrás de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná (ABPA, 2022).

Já em relação à carne bovina, o país configura como o maior exportador e apresenta ainda o segundo maior rebanho mundial, o que corresponde a 13,66% da produção mundial, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Anualmente o país produz mais de 9,7 milhões de toneladas, sendo que deste total, no ano passado, em torno de 74% foi destinado ao mercado interno, sendo a média do consumo per capita de 34,3 kg de carne por ano. Dentre os estados brasileiros, Minas Gerais é o terceiro maior produtor, ficando atrás apenas do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (ABIEC, 2022).

A alta produção, entretanto, exige a adoção de estratégias, como o uso dos antibióticos tanto para prevenir, controlar doenças e infecções, reduzir morbidade e mortalidade dos animais, quanto para atuar como promotores de crescimento. Esses antibióticos são muito utilizados na produção animal, estima-se que aproximadamente 80% destes animais são tratados com antibióticos em certa parte ou durante toda a vida (Bacanli & Başaran, 2019; Peng et al., 2021).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, os antibióticos podem ser classificados em 3 categorias principais para o uso em animais, sendo elas: uso terapêutico, o uso para prevenção de doenças e o uso para promoção de crescimento. O uso terapêutico é aquele destinado a tratar os animais com doenças infecciosas clinicamente diagnosticadas, como mastite, artrite, doenças respiratórias, gastrointestinais ou infecções bacterianas provocadas por bactérias como *Salmonella*, *Leptospira*, *Campylobacter fetus*, *Streptococcus suis*, *Escherichia coli* e *Enterococcus*. Já a sua utilização para a prevenção de doenças é destinada aos animais que se apresentam saudáveis ou aos que possam apresentar risco de infecção. A prevenção pode adotar características de profilaxia, quando a prevenção se destina a um animal ou a um grupo antes da manifestação clínica da doença; ou de metafilaxia, quando se pretende controlar a disseminação da doença dentro do grupo de animais (Bacanli & Başaran, 2019; OMS, 2017a).

Além disso, os antibióticos também podem ser utilizados como promotores de crescimento, através de sua administração em doses subterapêuticas. Geralmente, animais que são tratados com antibióticos em sua dieta podem apresentar um ganho de peso corporal de 4 a 5% a mais quando comparados com aqueles que não recebem antibióticos. Embora o modo como ocorra a promoção de crescimento não seja bem estabelecido, algumas hipóteses trazem que a utilização de antibióticos pode deixar as membranas das mucosas intestinais mais finas, melhorar a absorção de nutrientes e reduzir a formação de toxinas (Bacanli & Başaran, 2019; Patel et al., 2020).

Em todo o mundo, muitos dos antibióticos utilizados na medicina humana também são utilizados em animais para diversos fins, como já citado. Nos Estados Unidos, por exemplo, embora seja um país que adota uma postura de controle no uso de antibióticos, estima-se que dois terços da tonelagem de antibióticos considerados clinicamente importantes para humanos são vendidos para o uso na produção animal (Patel et al., 2020).

O grande problema é que os dados de vigilância referentes ao uso de antibióticos na pecuária não indicam informações importantes, como a dose administrada ou se esses antibióticos foram administrados para prevenir, controlar ou tratar uma doença. Isso dificulta ainda mais o monitoramento de seu uso na pecuária e a tomada de ações por parte dos órgãos de fiscalização, visto que mesmo que para o uso de antibióticos na pecuária seja necessário uma prescrição por parte do médico veterinário, a frequência e a dose de administração geralmente são guiadas por decisões particulares dos próprios produtores (Patel et al., 2020; Rabello et al., 2020).

Este uso excessivo de antibióticos na produção animal contribui para o aumento da resistência antimicrobiana, o que afeta o tratamento de doenças em animais e humanos e representa um risco à saúde pública, já que muitas drogas são de uso comum para humanos e animais. Devido a esse risco, em 2000 a União Europeia proibiu o uso de antimicrobianos como promotores de crescimento, e outros países, como a Coreia do Sul e Japão, proibiram o uso preventivo de antibióticos em animais (Peng et al., 2021).

Além disso, em 2015 a Organização Mundial de Saúde elaborou o Plano de Ação Global para combater a resistência antimicrobiana através da redução do uso desnecessário de antibióticos em animais e humanos. O plano é embasado em uma perspectiva “*One Health*”, incluindo animais, humanos e o meio ambiente como fatores interconectados, trabalhando, deste modo, com uma abordagem colaborativa e transdisciplinar, englobando diversos profissionais, como médicos e médicos veterinários. Dentre as recomendações do plano inclui-se a redução geral de antibióticos utilizados nos animais de produção e a restrição de uso de antibióticos clinicamente importantes para humanos em animais de produção como promotor de crescimento ou de modo preventivo (OMS, 2015).

A adoção de medidas como estas é muito importante, pois a redução no uso de antibióticos influencia na redução de bactérias resistentes aos antimicrobianos, bem como na redução da transmissão de genes de resistência através da cadeia produtiva de alimentos (Subbiah et al., 2020).

Além disso, há de se levar em consideração outro fator; os resíduos de antibióticos em alimentos de origem animal. Resíduos são metabólitos que são encontrados em baixas quantidades em qualquer porção comestível do produto animal após a administração dos antibióticos. Se esses resíduos ultrapassam o limite máximo aceitável, também podem contribuir para o desenvolvimento da resistência aos antibióticos em animais e humanos. Este limite é calculado com base no risco toxicológico e o possível efeito desses resíduos na microbiota intestinal, mas se essa concentração for respeitada, não há risco para a saúde do consumidor. Entretanto é necessário comentar que apesar desses possíveis efeitos adversos, as bactérias resistentes e a transferência de elementos móveis de resistência são os de expressiva significância em relação à resistência antimicrobiana (Bacanli & Başaran, 2019; Menkem et al., 2019).

3. A resistência antimicrobiana em *Escherichia coli* e as principais classes de antibióticos utilizadas nas cadeias produtivas de alimentos no cenário mundial e nacional

Definida como a habilidade de um microrganismo de impedir que um antimicrobiano atue sobre ele, a resistência antimicrobiana acomete uma ampla gama de agentes infecciosos (OMS, 2014). Dentre esses agentes, as bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* representam um perigo à saúde animal e humana, à medida que desenvolvem e disseminam resistência entre bactérias de uma mesma espécie ou de espécies diferentes com maior rapidez (Antonelli et al., 2019). Exemplo disso é a bactéria *Escherichia coli*, que merece destaque devido sua patogenicidade, prevalência e pela frequente detecção de resistência em seus diferentes isolados (Barlaam et al., 2019).

Devido à emergência de BGNMR, os antibióticos disponíveis para o tratamento de infecções provocadas por esses patógenos têm se tornado ineficientes, fazendo com que o tratamento seja difícil de ser realizado. Por constituir uma ameaça à saúde global, bactérias Gram-negativas como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos, bem como *Enterobacteriaceae* resistentes aos carbapenêmicos e às cefalosporinas de terceira geração, foram considerados pela Organização Mundial de Saúde como patógenos de prioridade crítica (Arzanlou et al., 2017; Tacconelli et al., 2017).

Diversos princípios ativos foram reportados em casos de resistência em *E. coli*, como por exemplo a ampicilina. Além disso, o aparecimento de isolados produtores de β -lactamases tem se tornado mais frequente, provocando resistência até mesmo aos carbapenêmicos, antibióticos escolhidos para o tratamento de infecções nosocomiais provocadas por *E. coli*, e hoje considerados como antibióticos de último recurso dentre os β -lactâmicos (Talebi et al., 2019). A família *Enterobacteriaceae* resistente aos carbapenêmicos é motivo de muita preocupação, segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (*Center for Disease Control and Prevention* – CDC) somente em 2017 reportou-se o gasto de aproximadamente 130 milhões de dólares para o tratamento de pessoas acometidas por estes microrganismos, sendo que 13 mil pessoas necessitaram de hospitalização e 1.100 vieram a óbito nos Estados Unidos (CDC, 2019).

Por conta da resistência antimicrobiana, alternativas como o uso de polimixinas como a colistina passaram a ser reconsideradas como última opção,

para o tratamento de infecções causadas por BGNMR nas últimas décadas (Li et al., 2006).

De modo a combater o uso desenfreado de antibióticos, a Organização Mundial de Saúde publicou uma lista de antibióticos de importância crítica; incluindo vários antibióticos como as cefalosporinas, glicopeptídeos, macrolídeos, polimixinas e quinolonas. Essa lista categoriza os antibióticos utilizados na medicina humana, muitos dos quais também são utilizados na medicina veterinária. Essa lista tem como objetivo garantir que esses antimicrobianos sejam usados criteriosamente em humanos e animais. Esses antibióticos devem ser utilizados somente quando os testes de sensibilidade da bactéria que provocou a doença em questão indicarem que aquele antibiótico, criticamente importante, é a única opção de tratamento (Bacanli & Başaran, 2019; Patel et al., 2020; OMS, 2017b).

Se tratando das opções de antibióticos utilizados na medicina veterinária, têm-se como exemplo os β -lactâmicos (como penicilinas e cefalosporinas), tetraciclina, cloranfenicol, macrolídeos, sulfonamidas, nitrofuranos, nitroimidazóis, trimetoprim, polimixinas, quinolonas, glicopeptídeos e aminoglicosídeos; e enquanto alguns antibióticos, como os carbapenêmicos, não são utilizados nos animais de produção, outros, como a colistina, são comumente utilizados (Bacanli & Başaran, 2019; Pissetti et al., 2021).

Fator importante a ser considerado é que, por suas particularidades, algumas cadeias fazem uso ainda mais intenso desses antibióticos. Exemplo disso é a cadeia produtiva de carne suína no Brasil, que tem características que variam de acordo com a região. A região Sudeste, por exemplo, abriga o segundo maior rebanho do país, com 7 milhões de cabeças, representando 17% do plantel brasileiro, sendo que Minas Gerais, juntamente com São Paulo, apresentam os maiores plantéis da região. A maioria desses sistemas de produção conta com alta densidade animal, e esta realidade, da pecuária intensiva, influencia no alto uso de antimicrobianos (ABCS, 2016; Morés, 2014; Peng et al., 2021).

Dentro da perspectiva mundial, o Brasil é o terceiro país que mais utiliza antibióticos em animais de produção (9%), ficando atrás da China (23%) e Estados Unidos (13%) (Bacanli & Başaran, 2019). Esse valor, entretanto, tende a aumentar, estima-se que pelos próximos 10 anos a produção de carne seja caracterizada por

um sistema intensivo dependente de antibióticos, e que, como consequência, o consumo global de antibióticos aumente em 67%. No entanto, em países como o Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul, o aumento esperado é ainda maior, 99% (Patel et al., 2020).

Desde 1998, o uso de algumas classes antimicrobianas como promotoras de crescimento foram proibidas no Brasil, a exemplo disso tem-se a colistina, proibida em 2016 (Brasil, 2016). Além deste antibiótico, devido ao risco que a resistência antimicrobiana representa à saúde pública, outros como avoparcina, cloranfenicol, tetraciclina, β -lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas), tilosina, lincomicina e tiamulina também foram proibidos como aditivo melhorador de desempenho no Brasil. Entretanto, com exceção do cloranfenicol e nitrofuranos, não há proibição dos antibióticos para uso profilático e terapêutico na produção de animais (ABCS, 2022; Brasil, 2020; Pissetti et al., 2021).

Em 2017 foi instituído o Programa Nacional de Prevenção e Controle de Resistência aos Antimicrobianos na Agropecuária - AgroPrevine (Brasil, 2017), mais tarde, esse programa foi associado ao Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle de Resistência aos Antimicrobianos no âmbito de Saúde Única (PAN-BR) (Brasil, 2019). O AgroPrevine tem como objetivo o “fortalecimento das ações para prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos na agropecuária, considerando o conceito de Saúde Única, que estabelece a interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental, por meio de atividades de educação, vigilância e defesa agropecuária” (Brasil, 2017).

Esses planos são muito importantes, pois podem evidenciar a associação entre o uso de antimicrobianos e a resistência antimicrobiana, e, deste modo, contribuir para programas de vigilância e monitoramento futuros. A resistência antimicrobiana é uma ameaça à saúde pública mundial, pois está associada ao aumento da mortalidade, hospitalização prolongada e altos custos de saúde. Por isso, é importante que se faça um trabalho de vigilância, controle e conscientização em relação ao uso desses antibióticos (Patel et al., 2020; Pissetti et al., 2021).

4. Colistina e mecanismos de resistência

As polimixinas são antibióticos polipeptídicos que foram isolados pela primeira vez na década de 1940 de uma bactéria Gram-positiva que normalmente habita solos; *Paenibacillus polymyxa* subsp. *colistinus* (Storm et al., 1977). São pequenas moléculas de lipopeptídeos; constituídas por um anel de peptídeo policatiônico ligado a uma cadeia de ácidos graxos hidrofóbica. Dentre as polimixinas clinicamente utilizadas tem-se a polimixina B e E (colistina), que se diferem apenas pelo aminoácido D-Fenilalanina presente no anel peptídico da polimixina B e D-Leucina na colistina (Malhotra-Kumar et al., 2016; Barlaam et al., 2019).

Se tratando da medicina veterinária, a colistina é comumente utilizada para fins profiláticos, metafiláticos e terapêuticos; principalmente para o tratamento de doenças entéricas provocadas por *Enterobacteriaceae* em aves e suínos submetidos a sistemas de criação intensivos, além de ser utilizada em muitos países como aditivo promotor de crescimento (Nordmann et al., 2016). No Brasil, seu uso foi proibido como aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal em 2016 (Brasil, 2016).

Já na medicina humana, as polimixinas foram muito utilizadas para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas. Porém, na década de 1980, devido a sua nefrotoxicidade e neurotoxicidade, foram substituídas por antibióticos menos tóxicos, como os aminoglicosídeos, ou tiveram seu uso restrito apenas para o tratamento de infecções persistentes em pacientes com fibrose cística, infecções de conjuntivite oftálmica e em pomadas antibióticas (Trimble et al., 2016).

Entretanto, nas últimas décadas as infecções provocadas por bactérias Gram-negativas resistentes à maioria dos antimicrobianos utilizados na clínica têm aumentado e por isso as polimixinas foram reintroduzidas a fim de tratar infecções provocadas por BGNMR, sendo a colistina considerada como a última opção terapêutica disponível (Trimble et al., 2016; Barlaam et al., 2019).

O espectro de atividade antibacteriano da colistina engloba a maioria dos bacilos Gram-negativos, mas não engloba as bactérias Gram-positivas, cocos Gram-

positivos e anaeróbios. Existem também bactérias intrinsicamente resistentes as polimixinas, como *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Serratia* spp., *Providencia* spp., *Morganella morganii*, *Edwardsiella tarda* e o complexo *Burkholderia* spp. (Olaitan et al., 2014; Barlaam et al., 2019).

O mecanismo de ação da colistina se dá pela interação eletrostática entre o lipídeo A, lipopolissacarídeo (LPS) da membrana celular de bactérias Gram-negativas (carregado negativamente) com a colistina (carregada positivamente). Essa interação promove o deslocamento dos íons cálcio e magnésio, desestabilizando a membrana externa da bactéria, o que resulta em alterações de permeabilidade e conseqüentemente extravasamento do conteúdo e morte celular (Nordmann et al., 2016).

Algumas bactérias, entretanto, podem apresentar resistência às polimixinas. Dentre os mecanismos de resistência mais identificados em bactérias Gram-negativas, como *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia* spp. e *Acinetobacter baumannii*, têm-se aqueles referentes a alterações na estrutura e carga do LPS, como a adição de resíduos carregados positivamente, dentre eles 4-amino-L-arabiose (L-Ara4N), fosfoetanolamina (PEtn) e/ou galactosamina. A incorporação desses resíduos reduz a carga negativa do LPS, reduzindo assim sua interação com a colistina (Trimble et al., 2016; Moffatt et al., 2019).

Dentre outros mecanismos de resistência menos comuns empregados pelas bactérias têm-se a perda do LPS (*Acinetobacter baumannii*), superexpressão da cápsula polissacarídica (*Klebsiella pneumoniae*) e superexpressão das bombas de efluxo (*Neisseria meningitidis*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*) (Moffatt et al., 2019).

Antes acreditava-se que esses mecanismos de resistência eram decorrentes de mutações cromossômicas, sendo moduladas por sistemas de dois componentes; o que permitia apenas a transmissão vertical desse determinante de resistência (Liu et al., 2016; Malhotra-Kumar et al., 2016). Os sistemas de dois componentes são sistemas que controlam a expressão de genes de resistência e podem ser ativados por mutações específicas nos próprios sistemas ou mediante a exposição a estímulos ambientais como presença de ferro, alta concentração de cálcio, baixa

concentração de magnésio, alterações do pH e a presença de antimicrobianos catiônicos, como as polimixinas (Nordmann et al., 2016).

Em *Escherichia coli* o sistema de dois componentes PmrA/PmrB e PhoP/PhoQ parece estar relacionado à resistência às polimixinas. Mutações nesses sistemas ativam genes como *eptA* (ou *pmrC*) e *arnT*, que são responsáveis pela modificação do lipídeo A pela adição de PEtN e L-Ara4N, respectivamente (Olaitan et al., 2014; Sato et al., 2018). É importante destacar que embora tenha sido sugerida certa relação entre as mutações nos sistema de dois componentes e a resistência às polimixinas, essa relação ainda não é bem esclarecida (Doumith et al., 2016; Rhouma et al., 2016).

Já no ano de 2015 foi reportado o primeiro mecanismo de resistência à colistina mediado por plasmídeo. Esse gene, *mcr-1*, foi identificado em *Escherichia coli* de uma amostra isolada na China em 2013, proveniente de suíno criado sob forma intensiva (Liu et al., 2016).

O gene *mcr-1* codifica uma proteína responsável pela adição de PEtn ao lipídeo A, resultando em um LPS mais catiônico, o que reduz a interação entre a colistina e a membrana celular bacteriana e confere resistência à colistina. A presença desse gene em plasmídeo é um fator preocupante, pois pela transferência horizontal, entre membros da família *Enterobacteriaceae* como *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *Salmonella* spp., por exemplo, a propagação da resistência a colistina pode aumentar rapidamente (Liu et al., 2016; Sun et al., 2018; Rau et al., 2020).

Desde a descoberta do gene *mcr-1*, foram descritos outros genes plasmidiais (*mcr-2* á *mcr-10*), sendo o gene *mcr-2* identificado pela primeira vez em *E. coli* proveniente de suínos e bezerros na Bélgica; o *mcr-3* de *E. coli* de suínos na China; o *mcr-4* de *S. enterica* sorovar Typhimurium de suínos na Itália, o *mcr-5* de *S. paratyphi B* de aves na Alemanha, o *mcr-6* de *Moraxella* spp. de suínos na Grã-Bretanha, o *mcr-7* de *K. pneumoniae* de frangos na Grã-Bretanha, o *mcr-8* de *K. pneumoniae* de suínos e humanos na China, o *mcr-9* de *S. Typhimurium* de humano nos Estados Unidos e o *mcr-10* de *Enterobacter roggkampii* de humano na China (Luo et al., 2020; Wang et al., 2020). Além disso, esses genes também foram identificados em bactérias como *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*,

Shigella sonnei, *Cronobacter sakazakii*, *Raoultella ornithinolytica* e *Aeromonas*, isoladas de humanos, animais, ambiente e alimentos (Luo et al., 2020; Rau et al., 2020).

A disseminação mundial desses genes enfatiza a importância de se pesquisar os mecanismos envolvidos na resistência à colistina em patógenos de origem alimentar, pois assim é possível entender tais mecanismos e assegurar ações de prevenção da disseminação de resistência á colistina através do uso responsável desse antibiótico (Luo et al., 2020; Rau et al., 2020).

5. β -lactâmicos e mecanismos de resistência

Os β -lactâmicos são caracterizados bioquimicamente pela presença de um anel β -lactâmico e representam a classe mais numerosa de antimicrobianos, sendo composta por diversos grupos como penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos (Lakshmi et al., 2014).

Esses antibióticos atuam inibindo a última etapa de formação da parede celular bacteriana, impedindo a síntese da camada de peptidoglicano e com isso induzindo um efeito autolítico. Não são ativos em micoplasmas e em bactérias intracelulares, sendo que seu espectro de ação compreende bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e espiroquetas (Marín e Gudiol, 2003).

Entretanto, as bactérias podem manifestar resistência aos β -lactâmicos de diversas formas, dentre elas: alterações na permeabilidade – alterações nas porinas, que acabam por dificultar a penetração do antibiótico; modificação de alvo – alteração nas proteínas ligadoras de penicilina, implicando na perda de afinidade dos β -lactâmicos com essas estruturas; bombas de efluxo – que eliminam o antibiótico para o exterior, e por fim; produção de enzimas – β -lactamases, que atuam quebrando a ligação amida do anel β -lactâmico (Hussain et al., 2021).

De modo geral, os β -lactâmicos podem ser utilizados na medicina humana para o tratamento de diversas síndromes infecciosas, como infecções de pele, do trato respiratório, do sistema nervoso central, endocardite bacteriana, dentre outros (Marín, Mar ; Gudiol, 2003).

As penicilinas e seus derivados e as cefalosporinas de primeira e segunda geração são recomendados como terapia de primeira linha em algumas infecções, sendo eficientes contra muitas bactérias, na ausência de resistência. No caso de resistência bacteriana, principalmente aquelas provocadas por microrganismos Gram-negativos produtores de β -lactamases, faz-se a associação de antibióticos como a amoxicilina, ampicilina, piperacilina e ticarcilina com inibidores de β -lactamases, como o ácido clavulânico, o que aumenta a eficácia do tratamento pela inativação de tais enzimas. Entretanto, tem-se elevado o número de bactérias resistentes a essas associações, e ainda, bactérias que apresentam resistência a essas associações geralmente apresentam resistência a cefalosporinas de amplo espectro e aos carbapenêmicos (CDC, 2013; Lakshmi et al., 2014).

As cefalosporinas de amplo espectro são utilizadas no tratamento de infecções graves provocadas por bactérias Gram-negativas, mas se resistentes, os carbapenêmicos são a única opção dentre os β -lactâmicos. Os carbapenêmicos são considerados como última opção de tratamento para infecções graves provocadas por bactérias Gram-negativas. Uma vez que as bactérias se apresentam resistentes aos carbapenêmicos, elas são resistentes a todas as subclasses de β -lactâmicos (CDC, 2013). Aztreonam é o único monobactâmico disponível para uso clínico, sendo efetivo para o tratamento de infecções provocadas por bactérias aeróbias Gram-negativas, mas não efetivo contra bactérias Gram-positivas e bactérias anaeróbias (Marín, Mar ; Gudíol, 2003).

Dentre os mecanismos envolvidos na resistência aos β -lactâmicos, a produção de β -lactamases é o principal, especialmente em bactérias Gram-negativas. Essas enzimas, como mencionado, degradam o anel β -lactâmico, impedindo desse modo a ação dos β -lactâmicos (Hussain et al., 2021; Lakshmi et al., 2014).

Através da associação entre o radical hidroxila, presente no resíduo de serina da β -lactamase, e o anel β -lactâmico do antimicrobiano forma-se uma ligação covalente acil-éster. É por meio da hidrólise deste éster que a enzima ativa é liberada, inativando os antimicrobianos. Já as metalo- β -lactamases, possuem o zinco, e não a serina, em seu sítio ativo, e a ativação do anel β -lactâmico acontece através deste (Livermore, 1995).

Em 1940, antes mesmo da liberação da penicilina para uso clínico, foi relatada a primeira β -lactamase em *E. coli* (Abraham e Chain, 1940). Já em 1965, foi descrita a primeira β -lactamase em plasmídeo, também isolada de *E. coli* (Livermore, 2009). Com o passar dos anos, o uso abusivo de β -lactâmicos, selecionou β -lactamases com espectro de hidrólise ainda mais potente que as gerações anteriores (Livermore & Woodford, 2006).

A codificação das β -lactamases é realizada por genes denominados *bla*, que podem estar presentes no cromossomo bacteriano ou em plasmídeos. E sua expressão pode ser continuamente ativada (forma constitutiva) ou estimulada pela presença de β -lactâmicos (Livermore, 1995; Tewari et al., 2022).

Existem mais de 1.800 variantes de β -lactamases, que são classificadas, de acordo com Ambler em relação à similaridade entre as cadeias de aminoácidos das enzimas e que apresentam resistência aos seguintes antimicrobianos respectivamente: A (serina penicilinas) – resistente à penicilina; B (metalo- β -lactamases) – à maioria dos β -lactâmicos; C (cefalosporinas) – à cefalosporinas ou D (oxacilinas) – à coxaciclina (Ambler, 1980; Hussain et al., 2021). De acordo com Bush e Jacob as variantes podem ainda ser classificadas por seus perfis fenotípicos, baseando-se na preferência de substrato da enzima e na inativação na presença de inibidores específicos (Bush e Jacoby, 2010), entretanto, a classificação mais utilizada é a de Ambler.

A classificação das β -lactamases é bastante complexa, mas com frequência são categorizadas em famílias de acordo com os perfis de resistência antimicrobiana que as enzimas conferem (Moxon & Paulus, 2016). As classes A e D consistem em ESBLs e são compostas principalmente pelas enzimas TEM, SHV, CTX-M e OXA; a classe B consiste em metalo- β -lactamases (MBL) e a classe C em β -lactamases AmpC (Hussain et al., 2021). Os tipos de β -lactamases mais comuns são: ESBLs, AmpCs, SHV, TEM e OXA (Lakshmi et al., 2014).

ESBLs são as β -lactamases de espectro estendido, do inglês *Extended Spectrum Beta-Lactamases*. Essas enzimas hidrolisam penicilinas, cefalosporinas de primeira e terceira geração e o aztreonam, mas não hidrolisam cefamicinas (cefoxetina) ou carbapenêmicos (Moxon & Paulus, 2016). As β -lactamases mediadas por plasmídeos mais comuns em *Enterobacteriaceae* são TEM-1, TEM-2,

e SHV-1 (Lakshmi et al., 2014). A expressão fenotípica de ESBLs é advinda de mutações em determinados genes, como *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} e *bla*_{CTX-M}, o que conferiu às ESBLs um espectro de hidrólise estendido (Tewari et al., 2022). As chamadas ESBLs clássicas são aquelas derivadas das enzimas TEM e SHV, essas são mais frequentemente encontradas em bactérias *E. coli* e *Klebsiella*. As ESBLs não clássicas são derivadas de outras enzimas, como CTX-M e OXA (Lakshmi et al., 2014).

ESBLs estão classificadas no grupo 2 de acordo com a classificação de Bush e Jacob, e no grupo A e D, de acordo com a classificação de Ambler (Ambler, 1980; Bush e Jacoby, 2010). Os genes que codificam as ESBLs apresentam ampla distribuição e podem se disseminar com muita facilidade, já que geralmente estão presentes em elementos genéticos móveis, como plasmídeos. Ainda, é importante ressaltar que esses genes também podem carregar genes de resistência de outras classes de antimicrobianos, como aminoglicosídeos e fluorquinolonas, contribuindo para o surgimento de bactérias multirresistentes (Moxon & Paulus, 2016; Silva & Lincopan, 2012).

A seleção de enterobactérias produtoras de ESBL é agravada pelo uso exacerbado de antimicrobianos na medicina humana e na produção animal, o que é preocupante, já que representa uma potencial disseminação para as pessoas através do contato direto e do consumo de alimentos contaminados, além do meio ambiente (Barlaam et al., 2019; Silva & Lincopan, 2012; Ibrahim et al., 2016; Tewari et al., 2022).

As β -lactamases da família TEM (Temoniera) são as β -lactamases mais estudadas e são frequentemente encontradas em bactérias Gram-negativas, como em *E. coli*, sendo responsável por quase 90% da resistência à ampicilina nessa bactéria. As mutações nos aminoácidos dessas enzimas são responsáveis pelas mais de 170 variações existentes. Essas enzimas conferem resistência às penicilinas e cefalosporinas de primeira geração, no entanto, o uso indevido de cefalosporinas de terceira e quarta geração contribuiu para o surgimento de variantes dessa que podem degradar tais cefalosporinas de espectro estendido (Cheng et al., 2022; Hussain et al., 2021; Lakshmi et al., 2014).

As β -lactamases SHV (*Sulphydryl variable*) podem hidrolisar penicilinas e cefalosporinas de primeira e de segunda geração, cefalosporinas de terceira geração ou ainda se apresentarem resistentes ao ácido clavulânico e ao tazobactam. A maioria dessas enzimas é isolada em *E. coli* e *K. pneumoniae* (Hussain et al., 2021).

As enzimas do tipo CTX-M (*Cefotaximase-Munich*), ao contrário da maioria das enzimas EBLs do tipo TEM ou SHV, hidrolisam preferencialmente a cefotaxima e a ceftriaxona, com hidrólise mais baixa para ceftazidima (Edelstein et al., 2003). Acredita-se que essas enzimas não surgiram de mutações nos genes TEM e SHV, mas que se originaram de um gene cromossômico presente no plasmídeo de *Kluyvera spp.* - uma bactéria ambiental, isolada de água e solos. Mutações posteriores conferiram a capacidade de hidrólise da ceftazidima (Hussain et al., 2021).

Produzidas por *Enterobacteriaceae* e *P. aeruginosa*, as enzimas da família OXA (*Oxacillin hydrolyzing*) são resistentes a aminopenicilinas e ureidopenicilinas e apresentam atividade hidrolítica contra cloxaciclina, oxaciclina e meticilina, entretanto são inibidas pelo ácido clavulânico (Lakshmi et al., 2014).

Outra classe de β -lactamase, a MBL (metalo- β -lactamases) possui o zinco em seu sítio ativo e são constituídas por várias enzimas, como IMP, SIM, GIM, SPM, NDM e VIM. Essa classe pode ser codificada por genes cromossômicos ou transferíveis e são resistentes a todos os β -lactâmicos, com exceção do aztreonam (Hussain et al., 2021).

Já as β -lactamases AmpC hidrolisam a primeira e a segunda geração de cefalosporinas, penicilinas e aztreonam. Também podem hidrolisar cefamicinas, mas não são inibidas in vitro por ácido clavulânico ou qualquer outro inibidor de β -lactamase. Essas β -lactamases podem apresentar resistência por conta de mutações no cromossomo bacteriano, resultando em superexpressão do gene *ampC*, mas também podem ser codificadas por plasmídeos (Lakshmi et al., 2014; Moxon & Paulus, 2016; Tewari et al., 2022). A expressão cromossômica de AmpC em *Enterobacteriaceae* pode ser induzida por meio da exposição dos isolados a agentes β -lactâmicos, especialmente a cefalosporinas; este é um fenômeno comum em *Enterobacter spp.*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Providencia spp.* e

Morganella morganii. Já a expressão mediada por plasmídeo é responsável pela superprodução desta enzima em *E. coli*, *Klebsiella* e *Salmonella enteritidis*, um fator preocupante, já que geralmente está associada a outros genes de resistência. Essas β -lactamases estão incluídas no grupo 1, (cefalosporinases) segundo a classificação de Bush e Jacob (Bush e Jacoby, 2010; Moxon & Paulus, 2016).

O estudo da Resistência Antimicrobiana na perspectiva One Health é muito importante, pois o uso indevido de antibióticos na medicina humana e veterinária, aliados com a alta transmissibilidade dos determinantes de resistência contribui para o aumento de bactérias resistentes aos antibióticos.

Patógenos produtores de β -lactamases, como ESBL, principalmente em *E. coli*, estão cada vez mais prevalentes em pacientes hospitalizados em todo mundo. Esta bactéria manifesta mecanismos de resistência constantemente, e por isso, pesquisá-la a fim de obter informações acerca de seus genes de resistência a antibióticos contribui para o entendimento dos mecanismos de resistência e o potencial risco de desenvolvimento de cepas multirresistentes (Tewari et al., 2022).

REFERÊNCIAS

- ABCS - Associação Brasileira dos Criadores de Suínos (2016). *Mapeamento da Suinocultura Brasileira*. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355242/0/Mapeamento+da+Suinocultura+Brasileira.pdf>> Acesso em: 01 jul. 2022.
- ABCS. (2022). *O Uso Prudente e Eficaz de Antibióticos na Suinocultura - Uma abordagem Única*. Disponível em: < https://abcs.org.br/wp-content/uploads/2022/06/Livro-ABCS-WEB-1-1_compressed.pdf> Acesso em 01 de jul. 2022.
- ABIEC- Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (2022). *Beef Report 2022*. Disponível em < <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/>>. Acesso em 01 jun. 2022.
- ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal (2022). *2022 Relatório Anual*. Disponível em <<https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf>>. Acesso em 01 jun. 2022.
- Abraham, E. P., & Chain, E. (1940). An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin. *Nature*, 837.
- Ambler, R. P. (1980). The structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 321–331. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(94\)00453-6](https://doi.org/10.1016/0009-2614(94)00453-6)
- Antonelli, P., Belluco, S., Mancin, M., Losasso, C., & Ricci, A. (2019). Genes conferring resistance to critically important antimicrobials in *Salmonella enterica* isolated from animals and food: A systematic review of the literature, 2013–2017. In *Research in Veterinary Science* (Vol. 126, pp. 59–67). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.08.022>
- Arzanlou, M., Chai, W. C., & Venter, H. (2017). Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. *Essays in Biochemistry*, 61(1), 49–59. <https://doi.org/10.1042/EBC20160063>
- Bacanli, M., & Bařaran, N. (2019). Importance of antibiotic residues in animal food. *Food and Chemical Toxicology*, 125(October 2018), 462–466. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.01.033>
- Barlaam, A., Parisi, A., Spinelli, E., Caruso, M., Di Taranto, P., & Normanno, G. (2019). Global emergence of colistin-resistant *Escherichia coli* in food chains

- and associated food safety implications: A review. *Journal of Food Protection*, 82(8), 1440–1448. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-116>
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2016). *Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016*.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2017). *Instrução Normativa nº 41, de 23 de outubro de 2017*.
- Brasil. Ministério da Saúde. (2019). *Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da Saúde Única 2018–2022 - PAN-BR*. Disponível em <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_prevencao_resistencia_antimicrobianos.pdf>. Acesso em 15 maio 2022.
- Brasil Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2020). *Instrução Normativa nº 1, de 13 de janeiro de 2020*.
- Brasil. Ministério da Saúde. (2022). *Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil - Informe 2022*. Disponível em <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/arquivos/apresentacao-surtos-dtha-2022.pdf>> Acesso em 15 maio 2022.
- Brisola, M. C., Crecencio, R. B., Bitner, D. S., Frigo, A., Rampazzo, L., Stefani, L. M., & Faria, G. A. (2019). Escherichia coli used as a biomarker of antimicrobial resistance in pig farms of Southern Brazil. *Science of the Total Environment*, 647, 362–368. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.438>
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. *Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2013*, 1–114. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2007.05.006>
- CDC. (2019). Antibiotic resistance threats in the United States. *Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019*, 1–113.

- Cheng, Q., Cheung, Y. C., Chan, E. W. C., Wong, K. Y., & Chen, S. (2022). Unveiling the evolution routes of TEM-type extended-spectrum β -lactamases. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 59(1), 106498. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106498>
- Cho, I., Yamanishi, S., Cox, L., Methé, B. A., Zavadil, J., Li, K., Gao, Z., Mahana, D., Raju, K., Teitler, I., Li, H., Alekseyenko, A. V., & Blaser, M. J. (2012). Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature*, 488(7413), 621–626. <https://doi.org/10.1038/nature11400>
- Croxen, M. A., & Finlay, B. B. (2010). Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*, 8(1), 26–38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2265>
- Doumith, M., Godbole, G., Ashton, P., Larkin, L., Dallman, T., Day, M., Day, M., Muller-Pebody, B., Ellington, M. J., de Pinna, E., Johnson, A. P., Hopkins, K. L., & Woodford, N. (2016). Detection of the plasmid-mediated mcr-1 gene conferring colistin resistance in human and food isolates of Salmonella enterica and Escherichia coli in England and Wales. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(8), 2300–2305. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw093>
- Edelstein, M., Pimkin, M., Palagin, I., Edelstein, I., & Stratchounski, L. (2003). Prevalence and Molecular Epidemiology of CTX-M Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in Russian Hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(12), 3724–3732. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.12.3724-3732.2003>
- Foster, T. J. (2019). Can β -Lactam Antibiotics Be Resurrected to Combat MRSA? *Trends in Microbiology*, 27(1), 26–38. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.005>
- Hesp, A., van Schaik, G., Wiegel, J., Heuvelink, A., Mevius, D., & Veldman, K. (2022). Antimicrobial resistance monitoring in commensal and clinical Escherichia coli from broiler chickens: Differences and similarities. *Preventive Veterinary Medicine*, 204(March), 105663. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105663>
- Hu, Y., Matsui, Y., & W. Riley, L. (2020). Risk factors for fecal carriage of drug-resistant Escherichia coli: A systematic review and meta-analysis. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-0691-3>
- Hussain, H. I., Aqib, A. I., Seleem, M. N., Shabbir, M. A., Hao, H., Iqbal, Z., Kulyar, M. F. e. A., Zaheer, T., & Li, K. (2021). Genetic basis of molecular mechanisms

- in β -lactam resistant gram-negative bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 158(June). <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105040>
- Ibrahim, D. R., Dodd, C. E. R., Stekel, D. J., Ramsden, S. J., & Hobman, J. L. (2016). Multidrug resistant, extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from a dairy farm. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(4), 1–13. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw013>
- Kumar, H., Chen, B. H., Kuca, K., Nepovimova, E., Kaushal, A., Nagraik, R., Bhatia, S. K., Dhanjal, D. S., Kumar, V., Kumar, A., Upadhyay, N. K., Verma, R., & Kumar, D. (2020). Understanding of colistin usage in food animals and available detection techniques: A review. *Animals*, 10(10), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ani10101892>
- Lakshmi, R., Nusrin, K. S., Georgy, S. A., & Sreelakshmi, K. S. (2014). Role of Beta Lactamases in Antibiotic Resistance: a Review. *International Research Journal of Pharmacy*, 5(2), 37–40. <https://doi.org/10.7897/22308407.050207>
- Li, J., Nation, R. L., Turnidge, J. D., Milne, R. W., Coulthard, K., Rayner, C. R., & Paterson, D. L. (2006). Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infectious Diseases*, 6(9), 589–601. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(06\)70580-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70580-1)
- Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L. X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L. F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J. H., & Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 161–168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
- Livermore, D. (2009). Beta-Lactamases- the Threat Renews. *Current Protein & Peptide Science*, 10(5), 397–400. <https://doi.org/10.2174/138920309789351994>
- Livermore, D. M. (1995). B-Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(4), 557–584. <https://doi.org/10.1128/cmr.8.4.557-584.1995>
- Livermore, D. M., & Woodford, N. (2006). The β -lactamase threat in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends in Microbiology*, 14(9), 413–420. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.07.008>

- Luo, Q., Wang, Y., & Xiao, Y. (2020). Prevalence and transmission of mobilized colistin resistance (mcr) gene in bacteria common to animals and humans. *Biosafety and Health*, 2(2), 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.05.001>
- Malhotra-Kumar, S., Xavier, B. B., Das, A. J., Lammens, C., Hoang, H. T. T., Pham, N. T., & Goossens, H. (2016). Colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring mcr-1 isolated from food animals in Hanoi, Vietnam. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(3), 286–287. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00014-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00014-1)
- Marín, Mar ; Gudiol, F. (2003). MARÍN & GULDIOL, 2003 - Antibióticos betalactámicos.pdf. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 42–55.
- Menkem, Z. E., Ngangom, B. L., Tamunjoh, S. S. A., & Boyom, F. F. (2019). Antibiotic residues in food animals: Public health concern. *Acta Ecologica Sinica*, 39(5), 411–415. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.10.004>
- Moffatt, J. H., Harper, M., & Boyce, J. D. (2019). Mechanisms of Polymyxin Resistance. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1145, 55–71. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16373-0_5
- Morés, N. (2014). É possível produzir suínos sem o uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho? Nelson Morés. *V Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal*, 10.
- Moxon, C. A., & Paulus, S. (2016). Beta-lactamases in Enterobacteriaceae infections in children. *Journal of Infection*, 72, S41–S49. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.04.021>
- Muloi, D., Ward, M. J., Pedersen, A. B., Fèvre, E. M., Woolhouse, M. E. J., & Van Bunnik, B. A. D. (2018). Are Food Animals Responsible for Transfer of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* or Their Resistance Determinants to Human Populations? A Systematic Review. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(8), 467–474. <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2411>
- Nordmann, P., Jayol, A., & Poirel, L. (2016). A universal culture medium for screening polymyxin-resistant gram-negative isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(5), 1395–1399. <https://doi.org/10.1128/JCM.00446-16>
- Olaitan, A. O., Morand, S., & Rolain, J. M. (2014). Mechanisms of polymyxin resistance: Acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 5(NOV), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00643>

- OMS - Organização Mundial de Saúde. (2014). Antimicrobial resistance. Global report on surveillance. Disponível em:
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf;jsessionid=C27ED5D91CE673952B8FCC0C9D415F14?sequence=1> .
Acesso em 14 mar. 2021.
- OMS. (2015). Global action plan on antimicrobial resistance. *World Health Organization*, 1–28. Disponível em <
<https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763>>. Acesso em 15 maio 2021.
- OMS. (2017a). WHO guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals. In *World Health Organization*. Disponível em <
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258970/9789241550130-eng.pdf?sequence=1>><
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258970/9789241550130-eng.pdf?sequence=1>>. Acesso em 15 maio 2021.
- OMS. (World Health Organization). (2017b). *Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*. 43(148), 348–365. Disponível em <
<https://www.quotidianosanita.it/allegati/allegato4135670.pdf>>. Acesso em 15 maio 2021
- Patel, S. J., Wellington, M., Shah, R. M., & Ferreira, M. J. (2020). Antibiotic Stewardship in Food-producing Animals: Challenges, Progress, and Opportunities. *Clinical Therapeutics*, 42(9), 1649–1658.
<https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.07.004>
- Peng, J. J., Balasubramanian, B., Ming, Y. Y., Niu, J. L., Yi, C. M., Ma, Y., & Liu, W. C. (2021). Identification of antimicrobial resistance genes and drug resistance analysis of *Escherichia coli* in the animal farm environment. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1788–1795.
<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.025>
- Pissetti, C., Kich, J. D., Allen, H. K., Navarrete, C., de Freitas Costa, E., Morés, N., & Cardoso, M. (2021). Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolated from pigs subjected to different antimicrobial administration protocols. *Research in Veterinary Science*, 137(February), 174–185. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.05.001>
- Rabello, R. F., Bonelli, R. R., Penna, B. A., Albuquerque, J. P., Souza, R. M., & Cerqueira, A. M. F. (2020). Antimicrobial resistance in farm animals in Brazil:

- An update overview. *Animals*, 10(4), 1–43.
<https://doi.org/10.3390/ani10040552>
- Rau, R. B., De Lima-Morales, D., Wink, P. L., Ribeiro, A. R., & Barth, A. L. (2020). Salmonella enterica mcr-1 Positive from Food in Brazil: Detection and Characterization. *Foodborne Pathogens and Disease*, 17(3), 202–208.
<https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2700>
- Rhouma, M., Beaudry, F., & Letellier, A. (2016). Resistance to colistin: what is the fate for this antibiotic in pig production? *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48(2), 119–126. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.04.008>
- Sato, T., Shiraishi, T., Hiyama, Y., Honda, H., Shinagawa, M., Usui, M., Kuronuma, K., Masumori, N., Takahashi, S., Tamura, Y., & Yokota, S. I. (2018). Contribution of novel amino acid alterations in PmrA or PmrB to colistin resistance in mcr-negative Escherichia coli clinical isolates, including major multidrug-resistant lineages O25b:H4-ST131-H30Rx and Non-x. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(9).
<https://doi.org/10.1128/AAC.00864-18>
- Silva, K. C. da, & Lincopan, N. (2012). Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 48(2), 91–99. <https://doi.org/10.1590/s1676-24442012000200004>
- Storm, D. R., Rosenthal, K. S., & Swanson, P. E. (1977). Polymyxin and related peptide antibiotics. *Annual Review of Biochemistry*, Vol. 46, 723–763.
<https://doi.org/10.1146/annurev.bi.46.070177.003451>
- Subbiah, M., Caudell, M. A., Mair, C., Davis, M. A., Matthews, L., Quinlan, R. J., Quinlan, M. B., Lyimo, B., Buza, J., Keyyu, J., & Call, D. R. (2020). Antimicrobial resistant enteric bacteria are widely distributed amongst people, animals and the environment in Tanzania. *Nature Communications*, 11(1).
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-13995-5>
- Sun, J., Zhang, H., Liu, Y. H., & Feng, Y. (2018). Towards Understanding MCR-like Colistin Resistance. In *Trends in Microbiology* (Vol. 26, Issue 9, pp. 794–808). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.02.006>
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D.L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outtersson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., . . . Zorzet, A. (2017). Discovery, research, and

development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)

- Talebi Bezmin Abadi, A., Rizvanov, A. A., Haertlé, T., & Blatt, N. L. (2019). World Health Organization Report: Current Crisis of Antibiotic Resistance. *BioNanoScience*, 9(4), 778–788. <https://doi.org/10.1007/s12668-019-00658-4>
- Tamta, S., Vinodh, V. K., Pruthvishree, B. S., Karthikeyan, R., Rupner, R. N., Chethan, G. E., Dubal, Z. B., Sinha, D. K., & Singh, B. R. (2020). Faecal carriage of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and New Delhi metallo beta-lactamase(NDM) producing Escherichia coli between piglets and pig farmworkers. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 73(November 2019), 101564. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101564>
- Tewari, R., Ganaie, F., Venugopal, N., Mitra, S., Shome, R., & Shome, B. R. (2022). Occurrence and characterization of genetic determinants of β -lactam-resistance in Escherichia coli clinical isolates. *Infection, Genetics and Evolution*, 100(August 2021), 105257. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105257>
- Trimble, M. J., Mlynářčik, P., Kolář, M., & Hancock, R. E. W. (2016). Polymyxin: Alternative mechanisms of action and resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(10), 1–22. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025288>
- Wang, C., Feng, Y., Liu, L., Wei, L., Kang, M., & Zong, Z. (2020). Identification of novel mobile colistin resistance gene mcr-10. *Emerging Microbes and Infections*, 9(1), 508–516. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1732231>

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Visto que a resistência antimicrobiana é uma problemática de Saúde Única, que afeta animais, homens e ambiente, e que a resistência a colistina e aos β -lactâmicos, seja ela provocada por mutações ou mediada por plasmídeos, coloca em risco a eficácia no tratamento contra bactérias Gram-negativas multirresistentes, este trabalho pretende investigar o perfil de resistência a estes antibióticos em isolados de *Escherichia coli* obtidos de diferentes cadeias produtivas de carne.

Objetivos Específicos

- Identificar o perfil fenotípico de resistência de isolados de *Escherichia coli* oriundos de isolados da cadeia produtiva bovina e suína da região de Uberlândia.
- Identificar o perfil genotípico de resistência à colistina e aos β -lactâmicos em isolados de *Escherichia coli*.

CAPÍTULO 2. Resistência à colistina e aos β -lactâmicos em isolados de *Escherichia coli* oriundos de bovinos, suínos e humanos de um abatedouro misto

NAYLA KELLEN DE OLIVEIRA VENTURA

RESUMO

Muitas bactérias, como *Escherichia coli*, apresentam com frequência genes de resistência a antibióticos considerados como a última opção disponível, comprometendo a eficácia do tratamento. Pelo fato da resistência antimicrobiana ser uma questão de Saúde Única, o objetivo deste trabalho foi investigar o perfil de resistência à colistina e aos β -lactâmicos em isolados de *Escherichia coli* oriundos de bovinos (n=106), suínos (n=100) e trabalhadores (n=29) de um abatedouro misto. Foram realizados testes fenotípicos de microdiluição e disco difusão para a avaliação da resistência à colistina e aos β -lactâmicos (ampicilina, amoxicilina, cefazolina, cefaclor, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime, imipenem, meropenem, aztreonam). Através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada a pesquisa por genes de resistência à colistina (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5*) e aos β -lactâmicos (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *ampC*). Os isolados de humanos não apresentaram resistência à colistina, já os de suínos apresentaram maior resistência (13%) que os de bovinos (4,7%); mesmo que nenhum gene *mcr* tenha sido identificado. Em relação aos β -lactâmicos, os isolados provenientes de animais e humanos apresentaram maior frequência de resistência para ampicilina e amoxicilina. Um isolado de suíno apresentou-se como produtor de ESBL (β -lactamase de espectro estendido). Nenhum isolado de bovino apresentou qualquer gene de resistência, 67% dos suínos e 24,14% dos humanos apresentaram o gene *bla*_{TEM} e apenas um isolado de suíno apresentou o gene *ampC*. A resistência antimicrobiana e o genes de resistência detectados em *E. coli* deste estudo são motivos de alerta. Para combater tal ameaça à saúde pública é necessário que estratégias sejam adotadas para compreender e controlar os mecanismos de resistência envolvidos na cadeia de produção dos alimentos de origem animal.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana. Saúde Única. Genes *bla*. Genes *mcr*.

1. Introdução

Os antibióticos são muito utilizados nos animais de produção, tanto para prevenir, controlar doenças e infecções, reduzir morbidade e mortalidade dos animais, quanto para atuar como promotor de crescimento (Peng et al., 2021). Entretanto, o uso excessivo e indisciplinado desses antibióticos, tanto na medicina humana, como na medicina veterinária, contribui para a resistência antimicrobiana à medida que exerce uma pressão seletiva, resultando no aumento de bactérias resistentes a diversos antibióticos, representando uma ameaça à saúde pública em todo o mundo (Luo et al., 2020).

Dentre as bactérias envolvidas na resistência antimicrobiana, tem-se *Escherichia coli*. Este microrganismo desempenha um papel importante na cadeia produtiva de alimentos de origem animal, pois além de ser um potencial patógeno e de servir como um indicador de contaminação, funciona também como um indicador de resistência antimicrobiana; já que contribui expressivamente com a disseminação de genes de resistência entre animais, humanos e ambiente (Barlaam et al., 2019).

Por conta da disseminação de bactérias multirresistentes, antibióticos já há muito tempo inutilizados, por conta de sua toxicidade, por exemplo, passaram a ser considerados como tratamento de último recurso contra infecções provocadas por essas bactérias, exemplo disto é o antibiótico colistina (Trimble et al., 2016). Já outros antibióticos, como os da classe dos β -lactâmicos, são amplamente utilizados na medicina humana, configurando-se como a classe de antibiótico mais efetiva para o tratamento de infecções devido sua baixa toxicidade e amplo espectro de atividade (Foster, 2019; Lakshmi et al., 2014).

A resistência observada para estes medicamentos têm relação com os genes de resistência à colistina e aos β -lactâmicos, como os *mcr*, *bla* e *ampC*, respectivamente. Tais genes são frequentemente relatados em *E. coli*, comprometendo a eficácia do tratamento dessas infecções (Hussain et al., 2021; Luo et al., 2020).

Porém, não só a perspectiva clínica deve ser levada em consideração ao se tratar da resistência antimicrobiana, pois sabe-se que os humanos, os animais e o

meio ambiente são partes indissociáveis e interdependentes dentro do conceito de Saúde Única (OMS, 2015).

Considerando que o Brasil é um grande produtor e exportador de carne bovina e suína. Assim, é de grande valia analisar o panorama da resistência bacteriana associada aos animais de criação e aos trabalhadores envolvidos nessa cadeia produtiva. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi investigar o perfil de resistência à colistina e aos β -lactâmicos em isolados de *Escherichia coli* oriundos de bovinos, suínos e trabalhadores de um abatedouro misto.

2. Materiais e métodos

A investigação da resistência à colistina e aos β -lactâmicos foi realizada no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (InsPOA) da Universidade Federal de Viçosa. No total foram selecionados 235 isolados de *Escherichia coli* da bacterioteca do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem animal (InsPOA)/DVT/UFV, originários de bovinos (n=106), suínos (n=100) e humanos (n=29). A obtenção dos isolados foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA/UFV), protocolo 49/2019 e pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP), protocolo 3.366.308.

2.1 Teste fenotípico para resistência à colistina dos isolados de *Escherichia coli* - Concentração Inibitória Mínima

Inicialmente os isolados selecionados e provenientes da coleção de cultura do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (InsPOA) foram reativados em caldo BHI (Infusão de cérebro coração) e incubados a 37°C por 24 horas. Posteriormente, os isolados foram semeados em placas de Ágar MacConkey e incubados a 37°C por 24 horas.

As colônias oriundas do ágar MacConkey foram adicionadas em tubos com caldo Mueller Hinton II Cátion Ajustado tendo sua turbidez ajustada à 0,5 da escala de McFarland. Após o ajuste, 20 μ L da suspensão bacteriana foram adicionados em poços contendo previamente um volume de 180 μ L de caldo Mueller Hinton II Cátion

Ajustado com as concentrações de sulfato de colistina de 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8 µg/mL e 16 µg/mL. Após a incubação das placas, 33°C por 20 horas, foi realizada a interpretação dos isolados pela presença de turbidez e concentração (CLSI, 2020). A Concentração Inibitória Mínima - CIM foi considerada como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, levando em conta o ponto de corte da seguinte forma: $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ = sensível, $> 2 \mu\text{g/mL}$ = resistente (EUCAST, 2022). Todos os isolados foram testados em duplicata e a cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 foi utilizada como controle negativo.

2.2 Teste fenotípico para resistência aos β -lactâmicos dos isolados de *Escherichia coli* – Disco difusão

Os isolados selecionados foram testados quanto a sua susceptibilidade frente a 11 antimicrobianos: amoxicilina (10µg), ampicilina (10µg), cefaclor (30µg), cefazolina (30µg), cefepime (30µg), cefotaxima (30µg), ceftazidima (30µg), ceftriaxona (30µg), imipenem (10µg), meropenem (10µg), aztreonam (30µg), por meio do método de difusão em ágar (Bauer et al., 1966).

Dessa forma, quatro a cinco colônias foram selecionadas de placas MacConkey, previamente incubadas, e suspensas em 3 mL de caldo BHI. Após incubação 37°C – 24 horas, os isolados foram ajustados à concentração padrão de 0,5 McFarland e com auxílio de um *swab* foram estriados em placas de Mueller Hinton. Após esse processo, os 11 discos de antibióticos foram adicionados em cada placa de modo equidistante. As placas foram incubadas a 37°C por 18-24 horas (Bauer et al., 1966; CLSI, 2020). Após incubação, foi realizada a interpretação dos resultados, classificando os isolados como sensíveis (S), intermediários (I) ou resistentes (R) de acordo com CLSI (CLSI, 2020).

Os isolados classificados com resistentes ou intermediários para cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima ou cefepime foram submetidos ao teste de disco aproximação para a verificação de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) (CLSI, 2020; Jarlier et al., 1988). Assim, os isolados selecionados foram cultivados, normalizados em 0,5 de McFarland e semeados em placas de ágar Mueller-Hinton, sendo que no centro da placa colocou-se um disco do antibiótico amoxicilina-ácido clavulânico (20/10µg) e ao seu redor, a uma distância de 20mm, foram distribuídos

mais quatro discos: cefotaxima (30 µg), ceftriaxona (30µg), ceftazidima (30µg) e cefepime (30µg).

Após a incubação das placas, 37°C por 18 horas, os isolados foram classificados como produtores de ESBL pela formação de uma zona fantasma entre o disco de amoxicilina-ácido clavulânico e os antibióticos marcadores (Jarlier et al., 1988).

2.3 Pesquisa dos genes para colistina e β-lactâmicos

Os isolados selecionados foram investigados para os genes *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5* (colistina) e *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *ampC* (β-lactâmicos). A obtenção do DNA foi realizada pelo método de fervura. Alíquotas de 300 µL das suspensões bacterianas foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos. O precipitado foi lavado com 500 µL de PBS (solução salina tamponada com fosfato) e centrifugado novamente por 10.000 rpm por 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 200 µL água Milli-Q estéril, sendo as amostras aquecidas em bloco seco a 100°C por 10 minutos e posteriormente centrifugadas por 7 minutos a 10.000 rpm. O sobrenadante foi armazenado em temperatura de -20°C para realização dos testes moleculares.

O protocolo para a amplificação dos genes investigados utilizou de master mix GoTaq Green Master Mix (Promega), 200 nMol de cada primer e água livre de nuclease até completar o volume final. As sequências de primers foram obtidas das referências conforme a Tabela 1, conjuntamente, a partir das referências, obtiveram-se as temperaturas de anelamento.

Tabela 1 - Iniciadores, tamanho do produto e temperatura de anelamento dos genes de resistência à colistina e aos β-lactâmicos investigados.

Alvo	Sequência 5'-3'	Pb	Tm (°C)	Referência
<i>mcr-1</i>	CGGTCAGTCCGTTTGTTT CTTGGTCGGTCTGTAGGG	309	58	(Barbieri et al., 2017)
<i>mcr-2</i>	CAAGTGTGTTGGTCGCAGTT TCTAGCCCCGACAAGCATAACC	715	58	(Rebelo et al., 2018)
<i>mcr-3</i>	AAATAAAAATTGTTCCGCTTATG AATGGAGATCCCCGTTTTT	929	58	(Rebelo et al., 2018)
<i>mcr-4</i>	TCACTTTCATCACTGCGTTG	1116	58	(Rebelo et al., 2018)

<i>mcr-5</i>	TTGGTCCATGACTACCAATG ATGCGGTTGTCTGCATTTATC TCATTGTGGTTGTCCTTTTCTG	1644	58	(Rebelo et al., 2018)
<i>bla_{TEM}</i>	GAGTACTCACCATCACAGAAAAGC GACTTCCCGTCGTGTAGATAAC	489	51	(Lu et al., 2010)
<i>bla_{CTX-M}</i>	TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA CGATATCGTTGGTGGTGCCATA	544	51	(Edelstein et al., 2003)
<i>bla_{SHV}</i>	TTATCTCCCTGTTAGCCACC GATTTGCTGATTTTCGCGCCG	796	55	(Ibrahim et al., 2016)
<i>ampC</i> (CMY-2)	AACACACTGATTGCGTCTGAC CTGGGCCTCATCGTCAGTTA	1226	60	(Pérez-Pérez & Hanson, 2002)

Pb = pares de bases. Tm = Temperatura de anelamento.

Os produtos das reações em cadeia da polimerase (PCR) foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 1,5%, em tampão 0,5X de Ácido Bórico-Tris-EDTA (TBE). Para visualização do material genético foi utilizado intercalante Unisafe[®] (UniScience, Osasco, Brasil), e fotodocumentador L-PIX-HE (Loccus Biotecnologia, 1299 Cotia, Brasil).

3. Resultados

Realizando as análises fenotípicas quanto a resistência à colistina e aos β-lactâmicos (Tabela 2), obteve-se um total de 7,65% (18/235) dos isolados de *E. coli* resistentes à colistina. Dentre todos os isolados, as amostras de origem suína foram as que apresentaram maior ocorrência de resistência (13,0%) à esse princípio ativo.

Em relação aos β-lactâmicos, obteve-se um total de 33,19% (78/235) dos isolados resistentes a pelo menos um dos princípios ativos. Os antibióticos que apresentaram maior frequência de resistência nas espécies animais foram a ampicilina e amoxicilina. Outros princípios ativos também apresentaram resistência, porém, em baixa frequência, e principalmente na espécie suína. Cabe destacar que os microrganismos de origem humana também apresentaram resistência ao grupo das penicilinas. Entre todas as amostras, somente um isolado, de origem suína, foi classificado como produtor de ESBL.

Tabela 2 - Resistência aos princípios ativos testados do grupo dos β -lactâmicos e ao sulfato de colistina em isolados de *Escherichia coli* de origem bovina, suína e humana.

Grupo	Antibiótico	Espécie					
		Bovina (n=106)		Suína (n=100)		Humana (n=29)	
		I	R	I	R	I	R
Polimixina	Colistina	0,0%	4,7%	0,0%	13,0%	0,0%	0,0%
Penicilina	Ampicilina	10,4%	2,8%	2,0%	60,0%	10,3%	24,1%
	Amoxicilina	3,8%	2,8%	1,0%	60,0%	3,5%	24,1%
Cefalosporinas	Cefazolina	1,9%	0,9%	22,0%	17,0%	27,6%	0,0%
	Cefaclor	0,0%	0,9%	0,0%	11,0%	0,0%	0,0%
	Cefotaxima	0,0%	1,9%	0,0%	12,0%	0,0%	0,0%
	Ceftriaxona	0,0%	1,9%	0,0%	10,0%	0,0%	0,0%
	Ceftazidima	0,0%	1,9%	2,0%	8,0%	0,0%	0,0%
	Cefepime	0,0%	0,9%	0,0%	5,0%	0,0%	0,0%
Carbapenêmicos	Imipenem	0,0%	0,9%	1,0%	1,0%	0,0%	0,0%
	Meropenem	0,0%	0,9%	1,0%	1,0%	0,0%	0,0%
Monobactâmicos	Aztreonam	0,0%	2,8%	0,0%	12%	0,0%	0,0%

* I = resistência intermediária; R = resistentes

Se tratando do perfil de resistência (Tabela 3), pode-se observar um total de 30 perfis diferentes e a predominância de dois principais, AMP, AMO e AMP, AMO e CFZ. Na cadeia produtiva suína é visível uma maior presença de perfis (21) e em humanos a menor quantidade (2 perfis).

Em relação à predição dos genes de resistência aos β -lactâmicos, os isolados apresentaram o gene *bla*_{TEM} em suínos (67%) e humanos (24,12%) e o gene *ampC* em apenas uma amostra suína. Em relação aos genes testados relacionados à resistência à colistina (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5*), todos os isolados apresentaram-se negativos.

Tabela 3 - Perfis de resistência em isolados de *Escherichia coli* de origem bovina, suína e humana testados contra a β -lactâmicos e ao sulfato de colistina.

Perfis de resistência	Espécie (isolados)			Total
	Bovina	Suína	Humana	
COL	4	1	0	5
AMP	1	0	0	1
AMO	1	0	0	1
ATM	1	1	0	2
COL, AMP	1	0	0	1
COL, CFC	0	1	0	1
AMP, AMO	0	18	1	19

COL, AMP, AMO	0	5	0	5
COL, CAZ, ATM	0	1	0	1
AMP, AMO, CFZ	0	25	6	31
COL, AMP, AMO, CFZ	0	1	0	1
AMP, AMO, CFZ, CFC	0	2	0	2
AMP, AMO, CFZ, CTX	0	1	0	1
AMP, AMO, CFZ, CFC, CTX	0	1	0	1
CTX, CRO, CAZ, CPM, ATM	0	1	0	1
AMP, AMO, CTX, CRO, CAZ, ATM	1	0	0	1
COL, AMP, AMO, CTX, CRO, CAZ, ATM	0	1	0	1
AMP, AMO, CFZ, CTX, CRO, CAZ, ATM	0	1	0	1
COL, CFZ, CFC, CTX, CRO, CAZ, CPM, ATM	0	1	0	1
AMP, AMO, CFZ, CFC, CTX, CRO, CAZ, ATM	0	1	0	1
AMP, AMO, CFZ, CFC, CTX, CRO, MPM, ATM	0	1	0	1
AMP, AMO, CFZ, CFC, CTX, CRO, CAZ, ATM, ESBL	0	1	0	1
COL, AMP, AMO, CFZ, CFC, CTX, CRO, CAZ, CPM, ATM	0	1	0	1
COL, AMP, AMO, CFZ, CFC, CTX, CRO, CAZ, CPM, IPM, ATM	0	1	0	1
AMP, AMO, CFZ, CFC, CTX, CRO, CAZ, CPM, IPM, MPM, ATM	1	1	0	2
TOTAL	7	21	2	30

COL= colistina, AMP=ampicilina, AMO= amoxicilina, CFZ= cefazolina , CFC= cefaclor, CTX= cefotaxima, CRO= ceftriaxona, CAZ= ceftazidima, CPM= cefepime, IPM= imipenem, MPM= meropenem, ATM=aztreonam, ESBL= β -lactamase de espectro estendido.

4. Discussão

Neste trabalho avaliou-se a resistência à colistina e aos β -lactâmicos em isolados de *Escherichia coli* oriundos de um mesmo frigorífico, porém de diferentes origens (bovinos, suínos e humanos). Em relação à resistência à colistina, 7,5% (18/235) dos isolados foram classificados como resistentes. Nos últimos anos, a ineficácia nos tratamentos de infecções provocadas por bactérias Gram-negativas classificadas como multirresistentes possibilitou a reintrodução das polimixinas como tratamento de infecções provocadas por enterobactérias, sendo a colistina considerada como a última opção terapêutica disponível (Barlaam et al., 2019; Trimble et al., 2016).

Em resposta ao uso terapêutico desse princípio, diversos trabalhos descrevem a presença de isolados de humanos resistentes (Sharahi et al., 2021; Zurfluh et al., 2017). Nesse trabalho não foram obtidos isolados resistentes à

colistina dentro da classificação oficial, porém, dois isolados de trabalhadores de frigoríficos foram não susceptíveis à colistina (MIC= 2 µg/mL), apresentando fatos que, em algum momento, essas pessoas foram expostas ao princípio ativo, seja pelo contato animal durante o abate ou por variáveis individuais.

Esse comportamento de resistência antibiótica não é exclusivo de humanos. A cadeia produtiva bovina e suína apresentou isolados resistentes, com participações de 4,7% (5/106) e 13% (13/100), respectivamente. Em bovinos, a presença de isolados resistentes a sulfato de colistina parece ser baixa e em sintonia com os nossos dados (Filioussis et al., 2020; Hassen et al., 2019; Timmermans et al., 2021).

Em suínos, a frequência de resistência é maior (Huang et al., 2017; Zhang et al., 2019). A alta incidência de isolados resistentes em suínos quando comparados com bovinos pode ser explicada pelo fato de esses animais serem submetidos ao sistema de criação intensivo, justificando o maior uso deste antimicrobiano nesta produção (Huang et al., 2017; Rabello et al., 2020; Zhang et al., 2019). No Brasil, dados não oficiais relatam a utilização de até sete classes de antibióticos, incluindo β-lactâmicos e colistina, como forma preventiva ou terapêutica nas granjas suínas (Azevedo et al., 2021).

Apesar da proibição da colistina em 2016 como promotor de crescimento em granjas de suínos (Brasil, 2016) ainda é possível verificar resquícios da utilização desse antibiótico pela presença de diversos trabalhos brasileiros reportados (Brisola et al., 2019; Fernandes et al., 2016; Kieffer et al., 2018; Morales et al., 2012) e pela presença de 13% (13/100) dos isolados de origem suína desse trabalho.

A predição de genes de resistência para colistina foi investigada e todos os isolados foram negativos para os genes pesquisados (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* e *mcr-5*). A presença desses genes é algo improvável ou ainda probabilístico, pois alguns trabalhos já relataram a presença fenotípica de colistina, porém nenhum achado desses genes (Buess et al., 2017; Zurfluh et al., 2017). Por outro lado, alguns trabalhos têm demonstrado a presença desses genes e seu papel como fatores importante de resistência (Huang et al., 2017; Tong et al., 2018; Zhang et al., 2019).

Embora este estudo não tenha identificado nenhum isolado de *E. coli* portador dos genes *mcr*, a resistência pode estar atrelada a outros fatores não investigados. Um dos fatores refere-se às outras variantes dos genes *mcr* como, por exemplo, *mcr-6*, *mcr-7*, *mcr-8*, *mcr-9* e *mcr-10* (Luo et al., 2020; Wang et al., 2020) que recentemente foram adicionadas como novos marcadores para colistina. Além disso, mutações envolvendo os sistemas de dois componentes PmrA-PmrB, PhoP-PhoQ e genes como *etk* e *mgrR* também estão relacionados a resistência à colistina (Olaitan et al., 2014; Sharahi et al., 2021; Delannoy et al., 2017; Janssen et al., 2020; Rebelo et al., 2018).

Em relação à resistência aos β -lactâmicos, os isolados de *E. coli* provenientes de animais apresentaram maior frequência para ampicilina e amoxicilina. Essa situação pode estar atrelada ao uso frequente desses antibióticos na medicina veterinária. Mesmo que não haja registro oficial da venda de antibióticos no Brasil, dados dos Estados Unidos mostram que penicilina é a segunda classe de antibióticos mais vendida para fins veterinários, ficando atrás apenas do grupo das tetraciclina (FDA, 2021).

De modo similar a este trabalho, outros estudos que avaliaram a resistência antimicrobiana em bovinos e suínos também comprovaram que ampicilina e amoxicilina foram, dentre os β -lactâmicos, aqueles que exibiram as maiores taxas de resistência (Jiang et al., 2011; Souto et al., 2017; Tong et al., 2018).

Comparando as cadeias produtivas, a produção suína apresentou maior frequência de resistência a antibióticos que os isolados de bovinos. Isso se deve à administração de antibióticos como promotores de crescimento e seu uso indiscriminado nesta cadeia produtiva, como previamente discutido, o que parece ser prática frequente no Brasil. Além disso, a produção de bovinos no país é frequentemente de sistema extensivo, reduzindo a necessidade do uso de antibióticos quando comparada com a produção de suínos, que se caracteriza pela alta densidade animal, mistura de leitões de diversas origens após o desmame e outros fatores imunossupressores que levam ao uso de antibióticos por parte dos produtores brasileiros (Cho et al., 2012; Morés, 2014; Rabello et al., 2020; Salerno et al., 2022).

Em relação aos isolados de origem humana, a maioria apresentou sensibilidade aos antibióticos testados, entretanto, alguns isolados apresentaram resistência às penicilinas, corroborando com achados de outros trabalhos (Sáenz et al., 2001; Thorsteinsdottir et al., 2010). Isso é um fator preocupante, já que essa classe de antibióticos é muito utilizada em tratamentos, pois além de apresentar baixo custo, possui ainda, uma alta eficácia contra infecções como sífilis, febre reumática e glomerulonefrite pós estreptocócica (Grumach & Ferraroni, 2006).

Diversos são os trabalhos que apresentam dados de frequência de isolados de *E. coli* produtores de ESBL (Brisola et al., 2019; Tamta et al., 2020; Xu et al., 2015). Neste estudo, obteve-se somente um isolado produtor de ESBL, oriundo de suíno. Segundo dados do CDC (2019), *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL são bactérias de fácil disseminação, principalmente em ambientes hospitalares, gerando em 2017 1,2 bilhões de dólares de prejuízo e 9.100 mortes. Nesse caminho, o uso intenso de antibióticos de diversas classes na produção suína torna-se um facilitador.

A forma como esses animais adquirem bactérias produtoras de ESBL é complexa, sendo diversas as portas de entrada, como, por exemplo, o transporte, novos animais introduzidos na granja, o consumo de águas residuais ou de tratamento inadequado, além da contaminação cruzada durante o abate (Bergšpica et al., 2020).

Além disso, ainda que os humanos desta pesquisa não tenham apresentado isolados produtores de ESBL, a identificação de um isolado produtor de ESBL é um fator preocupante, pois sabe-se que isolados de *E. coli* produtores de ESBL estão associados à co-resistência a outras classes de antibióticos e possuem genes de resistência que podem ser transferidos entre animais e humanos (Tamta et al., 2020).

Neste estudo, muitos isolados (67% dos suínos e 24,14% de humanos) apresentaram o gene *bla*_{TEM}, assim como em outros trabalhos (Dohmen et al., 2015; Tamta et al., 2020). Além disso, sabe-se que até 90% da resistência à ampicilina em *E. coli* é provocada por esse gene, e neste estudo a resistência a ampicilina foi observada em 86,49% (64/74) dos isolados que apresentaram este gene (Hussain et al., 2021).

Ainda, um isolado de suíno apresentou o gene *ampC*, assim como relatado em outros estudos. Embora a baixa detecção de *ampC* neste trabalho, ainda que tal gene seja sabidamente fracamente expresso em *E. coli*, o aumento do uso de cefalosporinas na pecuária tem aumentado sua detecção na cadeia produtiva de alimentos. Isso é motivo de preocupação, pois β -lactamases AmpC são capazes de hidrolisar vários antibióticos, como as cefalosporinas de espectro estendido (Rayamajhi et al., 2008; Von Salviati et al., 2015).

Analisando os perfis de resistência, 30 tipos diferentes foram relatados nos isolados desse abatedouro misto, sendo que 21 perfis são pertencentes à cadeia suína, reforçando dados da literatura sobre a dispersão de bactérias multidroga resistentes (Azevedo et al., 2021; Possebon et al., 2020; Viana et al., 2019, 2020).

Alguns perfis incluem os carbapenêmicos, sendo a resistência a essa classe de antibióticos factível em suínos, como relatado por diversos trabalhos (Ketkhaio et al., 2021; Tamta et al., 2020; Yuan et al., 2021). O preocupante é que este grupo de antibióticos é reconhecido como última droga de eleição para o tratamento de bactérias produtoras de ESBL. Por esse motivo, *Enterobacteriaceae* resistentes aos carbapenêmicos são chamadas de “bactérias pesadelo”. O CDC reportou que em 2017 essas bactérias foram responsáveis por aproximadamente 13.100 hospitalizações e 1.100 mortes (CDC, 2019).

A resistência antimicrobiana é uma ameaça à saúde pública, e por isso é importante que seja realizado um trabalho de vigilância, controle e conscientização em relação ao uso dos antibióticos. Por isso, em 2017, foi instituído no Brasil o Programa Nacional de Prevenção e Controle de Resistência aos Antimicrobianos na Agropecuária (AgroPrevine) (Brasil, 2017), que mais tarde foi associado ao Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle de Resistência aos Antimicrobianos no âmbito de Saúde Única (PAN-BR) (Brasil, 2019). Esses planos fortalecem as ações para prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos por meio de atividades de educação, vigilância e defesa agropecuária.

5. Conclusão

Fica claro que os alimentos de origem animal exercem um grande papel na disseminação de resistência antimicrobiana e que microrganismos como *E. coli* estão relacionados a essa disseminação como carreadores de genes de resistência. Trabalhos como este alertam as autoridades competentes do risco desta resistência e do envolvimento das cadeias produtivas, principalmente aquelas que utilizam antimicrobianos como caráter preventivo, e dessa forma, expõem a necessidade de adoção de medidas de controle oficiais desde a produção primária, como o uso correto de antimicrobianos na produção animal. Além disso, princípios ativos como a colistina devem ser mais estudados para amparar e subsidiar possíveis estratégias contra a resistência aos antimicrobianos.

6. Agradecimentos

À CAPES (Código de Financiamento 001), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG e CNPq.

REFERÊNCIAS

- Azevedo, E. C. de, Martins, B. T. F., Casas, M. R. T., Possebon, F. S., Junior, J. P. A., Nero, L. A., & Yamatogi, R. S. (2021). Multidrug Resistance and Virulence Profiles of Salmonella Isolated from Swine Lymph Nodes. *Https://Home.Liebertpub.Com/Mdr*, 27(4), 562–570. <https://doi.org/10.1089/MDR.2020.0120>
- Barbieri, N. L., Nielsen, D. W., Wannemuehler, Y., Cavender, T., Hussein, A., Yan, S., Nolan, L. K., & Logue, C. M. (2017). mcr-1 identified in Avian Pathogenic Escherichia coli (APEC). *PLoS ONE*, 1–13
- Barlaam, A., Parisi, A., Spinelli, E., Caruso, M., Di Taranto, P., & Normanno, G. (2019). Global emergence of colistin-resistant escherichia coli in food chains and associated food safety implications: A review. In *Journal of Food Protection* (Vol. 82, Issue 8, pp. 1440–1448). International Association for Food Protection. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-116>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493–496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493
- Bergšpica, I., Kaprou, G., Alexa, E. A., Prieto, M., & Alvarez-Ordóñez, A. (2020). Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) Producing Escherichia coli in Pigs and Pork Meat in the European Union. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(10), 1–23. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS9100678>
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2016). *Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016*.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2017). *Instrução Normativa nº 41, de 23 de outubro de 2017*.
- Brasil. Ministério da Saúde. (2019). *Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da Saúde Única 2018–2022 - PAN-BR*. Disponível em <https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_prevencao_resistencia_antimicrobianos.pdf>. Acesso em 15 maio 2022.
- Brisola, M. C., Crecencio, R. B., Bitner, D. S., Frigo, A., Rampazzo, L., Stefani, L. M., & Faria, G. A. (2019). Escherichia coli used as a biomarker of antimicrobial resistance in pig farms of Southern Brazil. *Science of the Total Environment*, 647, 362–368. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.438>

- Buess, S., Nüesch-Inderbilen, M., Stephan, R., & Zurfluh, K. (2017). Assessment of animals as a reservoir for colistin resistance: No MCR-1/MCR-2-producing Enterobacteriaceae detected in Swiss livestock. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 8, 33–34. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.11.001>
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention. (2019). Antibiotic resistance threats in the United States. *Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019*, 1–113.
- Cho, I., Yamanishi, S., Cox, L., Methé, B. A., Zavadil, J., Li, K., Gao, Z., Mahana, D., Raju, K., Teitler, I., Li, H., Alekseyenko, A. V., & Blaser, M. J. (2012). Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature*, 488(7413), 621–626. <https://doi.org/10.1038/nature11400>
- CLSI - Clinical Laboratory and Standards Institute. (2020). M100: performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 30th informational supplement. In *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (Vol. 9). CLSI Wayne.
- Delannoy, S., Devendec, L. Le, Jouy, E., Fach, P., Drider, D., & Kempf, I. (2017). Characterization of colistin-resistant escherichia coli isolated from diseased pigs in France. *Frontiers in Microbiology*, 8(NOV), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02278>
- Dohmen, W., Bonten, M. J. M., Bos, M. E. H., van Marm, S., Scharringa, J., Wagenaar, J. A., & Heederik, D. J. J. (2015). Carriage of extended-spectrum β -lactamases in pig farmers is associated with occurrence in pigs. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(10), 917–923. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.05.032>
- Edelstein, M., Pimkin, M., Palagin, I., Edelstein, I., & Stratchounski, L. (2003). Prevalence and Molecular Epidemiology of CTX-M Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in Russian Hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(12), 3724–3732. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.12.3724-3732.2003>
- EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2022). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 12.0, 2022*. [Http://Www.Eucast.Org](http://www.Eucast.Org)., 12,0, 1–110.

FDA – Food and Drug Administration (2021). *Summary Report On Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals*.
<https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>

Fernandes, M. R., Moura, Q., Sartori, L., Silva, K. C., Cunha, M. P., Esposito, F., Lopes, R., Otutumi, L. K., Gonçalves, D. D., Dropa, M., Matté, M. H., Monte, D. F., Landgraf, M., Francisco, G. R., Bueno, M. F., de Oliveira Garcia, D., Knöbl, T., Moreno, A. M., & Lincopan, N. (2016). Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene. *Eurosurveillance*, *21*(17), 1–6. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.17.30214>

Filioussis, G., Kachrimanidou, M., Christodoulopoulos, G., Kyritsi, M., Hadjichristodoulou, C., Adamopoulou, M., Tzivara, A., Kritas, S. K., & Grinberg, A. (2020). Short communication: Bovine mastitis caused by a multidrug-resistant, *mcr-1*-positive (colistin-resistant), extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* clone on a Greek dairy farm. *Journal of Dairy Science*, *103*(1), 852–857. <https://doi.org/10.3168/JDS.2019-17320>

Foster, T. J. (2019). Can β -Lactam Antibiotics Be Resurrected to Combat MRSA? *Trends in Microbiology*, *27*(1), 26–38. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.005>

Grumach, A. S., & Ferraroni, N. R. (2006). O papel da penicilina na Medicina Moderna. *J.Bras Doenças Sex Transm*, *18*, 7–13.

Hassen, B., Saloua, B., Abbassi, M. S., Ruiz-Ripa, L., Mama, O. M., Hassen, A., Hammami, S., & Torres, C. (2019). *mcr-1* encoding colistin resistance in CTX-M-1/CTX-M-15- producing *Escherichia coli* isolates of bovine and caprine origins in Tunisia. First report of CTX-M-15-ST394/D *E. coli* from goats. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *67*, 101366. <https://doi.org/10.1016/J.CIMID.2019.101366>

Huang, X., Yu, L., Chen, X., Zhi, C., Yao, X., Liu, Y., Wu, S., Guo, Z., Yi, L., Zeng, Z., & Liu, J. H. (2017). High prevalence of colistin resistance and *mcr-1* gene in *Escherichia coli* isolated from food animals in China. *Frontiers in Microbiology*, *8*(APR), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00562>

Hussain, H. I., Aqib, A. I., Seleem, M. N., Shabbir, M. A., Hao, H., Iqbal, Z., Kulyar, M. F. e. A., Zaheer, T., & Li, K. (2021). Genetic basis of molecular mechanisms in β -lactam resistant gram-negative bacteria. *Microbial Pathogenesis*, *158*(June). <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105040>

Ibrahim, D. R., Dodd, C. E. R., Stekel, D. J., Ramsden, S. J., & Hobman, J. L. (2016). Multidrug resistant, extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing

- Escherichia coli isolated from a dairy farm. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(4), 1–13. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw013>
- Janssen, A. B., Bartholomew, T. L., Marciszewska, N. P., Bonten, M. J. M., Willems, R. J. L., Bengoechea, J. A., & van Schaik, W. (2020). Nonclonal Emergence of Colistin Resistance Associated with Mutations in the BasRS Two-Component System in Escherichia coli Bloodstream Isolates. *MSphere*, 5(2). <https://doi.org/10.1128/msphere.00143-20>
- Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G., & Philippon, A. (1988). Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in enterobacteriaceae: Hospital prevalence and susceptibility patterns. *Clinical Infectious Diseases*, 10(4), 867–878. <https://doi.org/10.1093/clinids/10.4.867>
- Jiang, H. X., Lü, D. H., Chen, Z. L., Wang, X. M., Chen, J. R., Liu, Y. H., Liao, X. P., Liu, J. H., & Zeng, Z. L. (2011). High prevalence and widespread distribution of multi-resistant Escherichia coli isolates in pigs and poultry in China. *Veterinary Journal*, 187(1), 99–103. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.10.017>
- Ketkhao, P., Thongratsakul, S., Poolperm, P., Poolkhet, C., & Amavisit, P. (2021). Antimicrobial resistance profiles of Escherichia coli from swine farms using different antimicrobials and management systems. *Veterinary World*, 14(3), 689–695. <https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2021.689-695>
- Kieffer, N., Nordmann, P., Moreno, A. M., Moreno, L. Z., Chaby, R., Breton, A., Tissières, P., & Poirel, L. (2018). Genetic and functional characterization of an MCR-3-like enzyme-producing Escherichia coli isolate recovered from Swine in Brazil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(7), 1–8. <https://doi.org/10.1128/AAC.00278-18>
- Lakshmi, R., Nusrin, K. S., Georgy, S. A., & Sreelakshmi, K. S. (2014). Role of Beta Lactamases in Antibiotic Resistance: a Review. *International Research Journal of Pharmacy*, 5(2), 37–40. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.050207>
- Lu, H., Wang, X., Lang, X., Wang, Y., Dang, Y., Zhang, F., Tang, J., Li, X., & Feng, X. (2010). Preparation and application of microarrays for the detection of antibiotic resistance genes in samples isolated from Changchun, China. *Molecular Biology Reports*, 37(4), 1857–1865. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9621-4>
- Luo, Q., Wang, Y., & Xiao, Y. (2020). Prevalence and transmission of mobilized colistin resistance (mcr) gene in bacteria common to animals and humans. In *Biosafety and Health* (Vol. 2, Issue 2, pp. 71–78). Elsevier B.V.

<https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.05.001>

- Morales, A. S., Fragoso De Araújo, J., De Moura Gomes, V. T., Reis Costa, A. T., Prazeres Rodrigues, D. Dos, Porfida Ferreira, T. S., De Lima Filsner, P. H. N., Felizardo, M. R., & Micke Moreno, A. (2012). Colistin resistance in escherichia coli and salmonella enterica strains isolated from Swine in Brazil. *The Scientific World Journal*, 2012, 4–7. <https://doi.org/10.1100/2012/109795>
- Morés, N. (2014). É possível produzir suínos sem o uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho? Nelson Morés. *V Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal*, 10.
- Olaitan, A. O., Morand, S., & Rolain, J. M. (2014). Mechanisms of polymyxin resistance: Acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 5(NOV), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00643>
- OMS- Organização Mundial de Saúde. (2015). Global action plan on antimicrobial resistance. *World Health Organization*, 1–28.
- Peng, J. J., Balasubramanian, B., Ming, Y. Y., Niu, J. L., Yi, C. M., Ma, Y., & Liu, W. C. (2021). Identification of antimicrobial resistance genes and drug resistance analysis of Escherichia coli in the animal farm environment. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1788–1795. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.025>
- Pérez-Pérez, F. J., & Hanson, N. D. (2002). Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(6), 2153–2162. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.6.2153-2162.2002>
- Possebon, F. S., Tiba Casas, M. R., Nero, L. A., Yamatogi, R. S., Araújo, J. P., & Pinto, J. P. de A. N. (2020). Prevalence, antibiotic resistance, PFGE and MLST characterization of Salmonella in swine mesenteric lymph nodes. *Preventive Veterinary Medicine*, 179(April), 105024. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105024>
- Rabello, R. F., Bonelli, R. R., Penna, B. A., Albuquerque, J. P., Souza, R. M., & Cerqueira, A. M. F. (2020). Antimicrobial resistance in farm animals in Brazil: An update overview. *Animals*, 10(4), 1–43. <https://doi.org/10.3390/ani10040552>
- Rayamajhi, N., Kang, S. G., Lee, D. Y., Kang, M. L., Lee, S. I., Park, K. Y., Lee, H. S., & Yoo, H. S. (2008). Characterization of TEM-, SHV- and AmpC-type β -lactamases from cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae isolated from swine. *International Journal of Food Microbiology*, 124(2), 183–187.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.009>

- Rebelo, A. R., Bortolaia, V., Kjeldgaard, J. S., Pedersen, S. K., Leekitcharoenphon, P., Hansen, I. M., Guerra, B., Malorny, B., Borowiak, M., Hammerl, J. A., Battisti, A., Franco, A., Alba, P., Perrin-Guyomard, A., Granier, S. A., de Frutos, C., Escobar, Malhotra-Kumar, S., Villa, L., ... Hendriksen, R. S. (2018). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes. *Eurosurveillance*, *23*(6), 1–11. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.6.17-00672>
- Sáenz, Y., Zarazaga, M., Brias, L., Lantero, M., Ruiz-Larrea, F., & Torres, C. (2001). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *18*(4), 353–358. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(01\)00422-8](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(01)00422-8)
- Salerno, B., Furlan, M., Sabatino, R., Di Cesare, A., Leati, M., Volanti, M., Barco, L., Orsini, M., Losasso, C., & Cibir, V. (2022). Antibiotic resistance genes load in an antibiotic free organic broiler farm. *Poultry Science*, *101*(3), 101675. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101675>
- Sharahi, J. Y., Hashemi, A., Ardebili, A., & Davoudabadi, S. (2021). Molecular characteristics of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospitalized patients in Tehran, Iran. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, *20*(1). <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00437-8>
- Souto, M. S. M., Coura, F. M., Dorneles, E. M. S., Stynen, A. P. R., Alves, T. M., Santana, J. A., Pauletti, R. B., Guedes, R. M. C., Viott, A. M., Heinemann, M. B., & Lage, A. P. (2017). Antimicrobial susceptibility and phylogenetic *Escherichia coli* and salmonella entérica isolates and pigs in Minas Gerais, Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, *49*, 13–23.
- Tamta, S., Vinodh, V. K., Pruthivishree, B. S., Karthikeyan, R., Rupner, R. N., Chethan, G. E., Dubal, Z. B., Sinha, D. K., & Singh, B. R. (2020). Faecal carriage of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and New Delhi metallo beta-lactamase (NDM) producing *Escherichia coli* between piglets and pig farmworkers. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *73*(November 2019), 101564. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101564>
- Thorsteinsdottir, T. R., Haraldsson, G., Fridriksdottir, V., Kristinsson, K. G., & Gunnarsson, E. (2010). Prevalence and genetic relatedness of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from animals, foods and humans in Iceland. *Zoonoses and Public Health*, *57*(3), 189–196. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01256.x>

- Timmermans, M., Wattiau, P., Denis, O., & Boland, C. (2021). Colistin resistance genes *mcr-1* to *mcr-5*, including a case of triple occurrence (*mcr-1*, -3 and -5), in *Escherichia coli* isolates from faeces of healthy pigs, cattle and poultry in Belgium, 2012–2016. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 57(6), 106350. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106350>
- Tong, H., Liu, J., Yao, X., Jia, H., Wei, J., Shao, D., Liu, K., Qiu, Y., Ma, Z., & Li, B. (2018). High carriage rate of *mcr-1* and antimicrobial resistance profiles of *mcr-1*-positive *Escherichia coli* isolates in swine faecal samples collected from eighteen provinces in China. *Veterinary Microbiology*, 225, 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.09.018>
- Trimble, M. J., Mlynářčík, P., Kolář, M., & Hancock, R. E. W. (2016). Polymyxin: Alternative mechanisms of action and resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(10), 1–22. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025288>
- Viana, C., Grossi, J. L., Sereno, M. J., Yamatogi, R. S., Bersot, L. dos S., Call, D. R., & Nero, L. A. (2020). Phenotypic and genotypic characterization of non-typhoidal *Salmonella* isolated from a Brazilian pork production chain. *Food Research International*, 137(January), 109406. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109406>
- Viana, C., Jagnow, M., Pegoraro, K., Seiti, R., Ruben, D., Bersot, S., & Augusto, L. (2019). Distribution, diversity, virulence genotypes and antibiotic resistance for *Salmonella* isolated from a Brazilian pork production chain. *International Journal of Food Microbiology*, 310(August), 108310. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108310>
- Von Salviati, C., Laube, H., Guerra, B., Roesler, U., & Friese, A. (2015). Emission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from pig fattening farms to surrounding areas. *Veterinary Microbiology*, 175(1), 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.10.010>
- Wang, C., Feng, Y., Liu, L., Wei, L., Kang, M., & Zong, Z. (2020). Identification of novel mobile colistin resistance gene *mcr-10*. *Emerging Microbes and Infections*, 9(1), 508–516. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1732231>
- Xu, G., An, W., Wang, H., & Zhang, X. (2015). Prevalence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase genes in *Escherichia coli* isolated from piglets with post-weaning diarrhea in Heilongjiang province, China. *Frontiers in Microbiology*, 6(OCT), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01103>

- Yuan, J., Wang, X., Shi, D., Ge, Q., Song, X., Hu, W., Wei, D., Ge, C., Li, X., & Hu, C. (2021). Extensive antimicrobial resistance and plasmid-carrying resistance genes in mcr-1-positive *E. coli* sampled in swine, in Guangxi, South China. *BMC Veterinary Research*, *17*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02758-4>
- Zhang, X., Zhang, B., Guo, Y., Wang, J., Zhao, P., Liu, J., & He, K. (2019). Colistin resistance prevalence in *Escherichia coli* from domestic animals in intensive breeding farms of Jiangsu Province. *International Journal of Food Microbiology*, *291*(May 2018), 87–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.013>
- Zurfluh, K., Stephan, R., Widmer, A., Poirel, L., Nordmann, P., Nüesch, H. J., Hächler, H., & Nüesch-Inderbinen, M. (2017). Screening for fecal carriage of MCR-producing Enterobacteriaceae in healthy humans and primary care patients. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, *6*(1), 7–10. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0186-z>