



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

# IJDR

International Journal of Development Research

Vol. 11, Issue, 10, pp. 51119-51125, October, 2021

<https://doi.org/10.37118/ijdr.23033.10.2021>



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

## PREVALÊNCIA, PERFIL DE RESISTÊNCIA E VIRULÊNCIA DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADA DE FRANGOS COMERCIALIZADOS EM TERESINA-PI

Joanne Ribeiro Rodrigues<sup>1</sup>, Felipe Araújo de Alcântara Oliveira<sup>2</sup>, Marcos Vitor Silva Rocha<sup>3</sup>, Aline Magalhães de Lima<sup>3</sup>, Handeson Brito Araújo<sup>3</sup>, Tiago Rodrigues da Silva<sup>3</sup>, Avilnete Belém de Souza Mesquita<sup>3</sup>, Lucas Lima Vieira<sup>4</sup>, Humberto Medeiros Barreto<sup>3</sup>, Daniela ReisJoaquim de Freitas<sup>3,5</sup>, Maria do Rosário Conceição Moura Nunes<sup>3</sup> and Josie Haydée Lima Ferreira<sup>1,3,5</sup>

<sup>1</sup>Mestrado em Ciências e Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Piauí, Brasil; <sup>2</sup>Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisas com Células-Tronco (NUPCELT), Universidade Federal do Piauí (UFPI), Piauí, Brasil; <sup>3</sup>Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LPM), Departamento de Parasitologia e Microbiologia, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Piauí, Brasil. <sup>4</sup>Especialização em Geoprocessamento, Instituto Federal do Piauí (IFPI); Núcleo de Estudos em Microbiologia e Parasitologia (NUEMP), Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal do Piauí<sup>5</sup>

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 28<sup>th</sup> August, 2021  
Received in revised form  
09<sup>th</sup> September, 2021  
Accepted 16<sup>th</sup> October, 2021  
Published online 30<sup>th</sup> October, 2021

#### Key Words:

*Escherichia coli*, Shiga toxin-producing *E. coli*, Chickens, Foodborne Diseases, O157.

#### \*Corresponding author:

Caio Vinicius G. Roman-Torres

### ABSTRACT

The treatment of type II *Escherichia coli* stands out among the main pathogens causing foodborne illnesses, with the Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) pathotype of concern. This pathogenic group carries the *stx1* and/or *stx2* genes, encoding the Shiga toxin, and causes intoxication with clinical pictures of diarrhea and hemorrhagic colitis, which may progress to severe manifestations. Despite the importance of this microorganism in ruminant meat, its presence in poultry meat has been little investigated. This study aimed to evaluate the presence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in refrigerated chickens sold in the city of Teresina, Piauí, and characterize isolates obtained. The frequency of *E. coli* in the collected samples was 58.9% (63/107). It was observed that 12 strains were positive for O157 and 55.55% of the isolates had a multidrug resistance profile (MDR). None of the isolated strains had the *stx1*, *stx2* or *eae* genes. Although the research did not reveal the presence of enterohemorrhagic or enteropathogenic *E. coli* in the analyzed samples, these results are of concern due to the presence of multiresistant *E. coli* in commercialized chicken meat in the municipality of Teresina, reinforcing the need to monitor the spread of multiresistant pathogens.

Copyright © 2021, Joanne Ribeiro Rodrigues et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Joanne Ribeiro Rodrigues, Felipe Araújo de Alcântara Oliveira, Marcos Vitor Silva Rocha, Aline Magalhães de Lima et al. "Prevalência, perfil de resistência e virulência de *escherichia coli* isolada de frangos comercializados em teresina-pi.", *International Journal of Development Research*, 11, (10), 51119-51125.

## INTRODUCTION

A população mundial atribui grande importância à carne na composição alimentar, que é um dos principais alimentos que compõem a mesa de muitas famílias (RIBEIRO, CORÇÃO, 2013). A produção e comercialização de carne e, principalmente carne de frango ocupa as primeiras posições no ranking do agronegócio brasileiro. Sendo o Brasil um dos três maiores produtores e exportadores de carne de frango (AVISITE, 2015; BRASIL, 2016a; BRASIL, 2016b).

Esse aumento na produção tem levado a prática de utilização de aditivos alimentares, incluindo antimicrobianos, nas rações animais, com a finalidade de promover o crescimento (MORENO-BONDI, 2009; ZHAO, DONG E WAND 2010; MODI et al., 2011). Além disso, também são usados para o tratamento de infecções, profilaxia e, em baixas concentrações, para favorecer significativamente o ganho de peso (SANTOS, 2012). Trata-se, contudo, de uma prática extremamente danosa por favorecer a seleção e disseminação de micro-organismos multirresistentes (GEBREYES et al., 2017). A resistência bacteriana é um problema de saúde cada vez mais importante, por ter consequências danosas como a dificuldade de tratamento de doenças causadas por infecções bacterianas,

ocasionando o aumento da morbidade e mortalidade. Além disso, origina o aumento considerável dos custos de tratamento, não só pela busca de medicamentos mais eficazes, como também pelos custos de internação por períodos maiores (LOUREIRO *et al.*, 2016). Embora o processo de produção de aves e as medidas de saneamento tenham feito grande progresso, o controle e a redução de agentes associados a doenças transmissíveis por alimentos (DTAs) nas carcaças de frangos e produtos avícolas continuam sendo um desafio. A contaminação das carcaças de frangos é representada por uma microbiota originária principalmente das aves vivas, do ambiente em que foram criadas ou incorporadas durante a manipulação e as operações de abate, principalmente se o processo de abate não for realizado com o devido cuidado (MANI-LÓPEZ, GARCÍA & LÓPEZ-MALO, 2012). No Brasil, a carne resfriada de aves *in natura* (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes) é considerada aceitável para o consumo quando apresenta o máximo de  $10^4$  NMP termotolerantes/g de produto. No entanto, em caso de surtos causados por contaminação alimentar os padrões microbiológicos exigidos não são aplicados (BRASIL, 2003). Nesse cenário, destaca-se a importância da *E. coli* como agente de surtos alimentares envolvendo produtos de origem animal. De acordo com a patogênese, a presença de fatores de virulência e manifestações clínicas as *E. coli* se classificam em seis grupos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* com aderência difusa (DAEC) e *E. coli* enterohemorrágica e as produtora de toxina Shiga (EHEC/VTEC/STEC) (NAVARRO *et al.*, 2017). Dos seis grupos, as principais causadoras de DTAs são as cepas que produzem toxina Shiga, conhecidas como *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC), denominadas de *Stx 1* e *Stx 2* (SHETTY *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2011).

Essas cepas merecem destaque como bactérias emergentes relacionadas com a ingestão de alimentos contaminados, uma vez que estão associadas com uma ampla gama de doenças humanas, que varia desde uma leve diarreia até severas diarreias sanguinolentas (colites hemorrágicas – CH) que podem evoluir para complicações extraintestinais como a Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU), cuja mais grave possível sequela é a falência dos rins e a Púrpura Trombocitopênica (PTT), que acomete principalmente os idosos (MORA, 2005). De acordo com Isolant (2007), *E. coli*, pode estar presentes na maioria das carcaças de frango e sua origem fecal inquestionável a qualifica como o agente indicador da contaminação fecal recente e de eventual presença de micro-organismos patogênicos em determinada fonte. O sorotipo O157: H7 tem sido o mais isolado nos casos de enfermidades em todo o mundo, mas outros sorotipos não-O157 também tem sido implicado em doenças (KARMALI *et al.*, 2010). A dose infectante da cepa O157:H7 é baixa, variando entre 10 e 100 UFC/g ou mL do alimento (FENG *et al.*, 2011). As pessoas com maior susceptibilidade à infecção por STEC na população são os imunocomprometidos, incluindo crianças menores de cinco anos e idosos (WESTERHOLT *et al.*, 2003). Nos Estados Unidos são estimados anualmente mais de 265.000 casos de doença transmitida por alimento causada por STEC, com apresentação de quadro diarreico brando até síndrome urêmica hemolítica (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2018). Observa-se ainda que, cepas de *E. coli* do patótipo STEC resistentes a vários antimicrobianos têm sido isoladas de humanos e aves, bem como produtos avícolas (JAFARI *et al.*, 2009; ALIKHANI *et al.*, 2013; RASHEED *et al.*, 2014; RANJBAR *et al.*, 2017 SOMDA *et al.*, 2018) o que pode dificultar o sucesso no tratamento de doentes graves. Diante do exposto, objetivou-se neste estudo verificar a presença de *E. coli* O157 em frangos comercializados em Teresina, estado do Piauí, determinar o perfil de resistência a múltiplos antimicrobianos e caracterizar esses isolados quanto presença de genes específicos de virulência (*stx1*, *stx2* e *eae*).

## METODOLOGIA

Foram analisadas 107 carcaças ou pedaços de frango (asa, coxa, pescoço, outros) adquiridos em estabelecimentos comerciais ou mercados públicos que comercializavam frangos resfriados de pequenos produtores ou granjas locais. As coletas foram divididas por

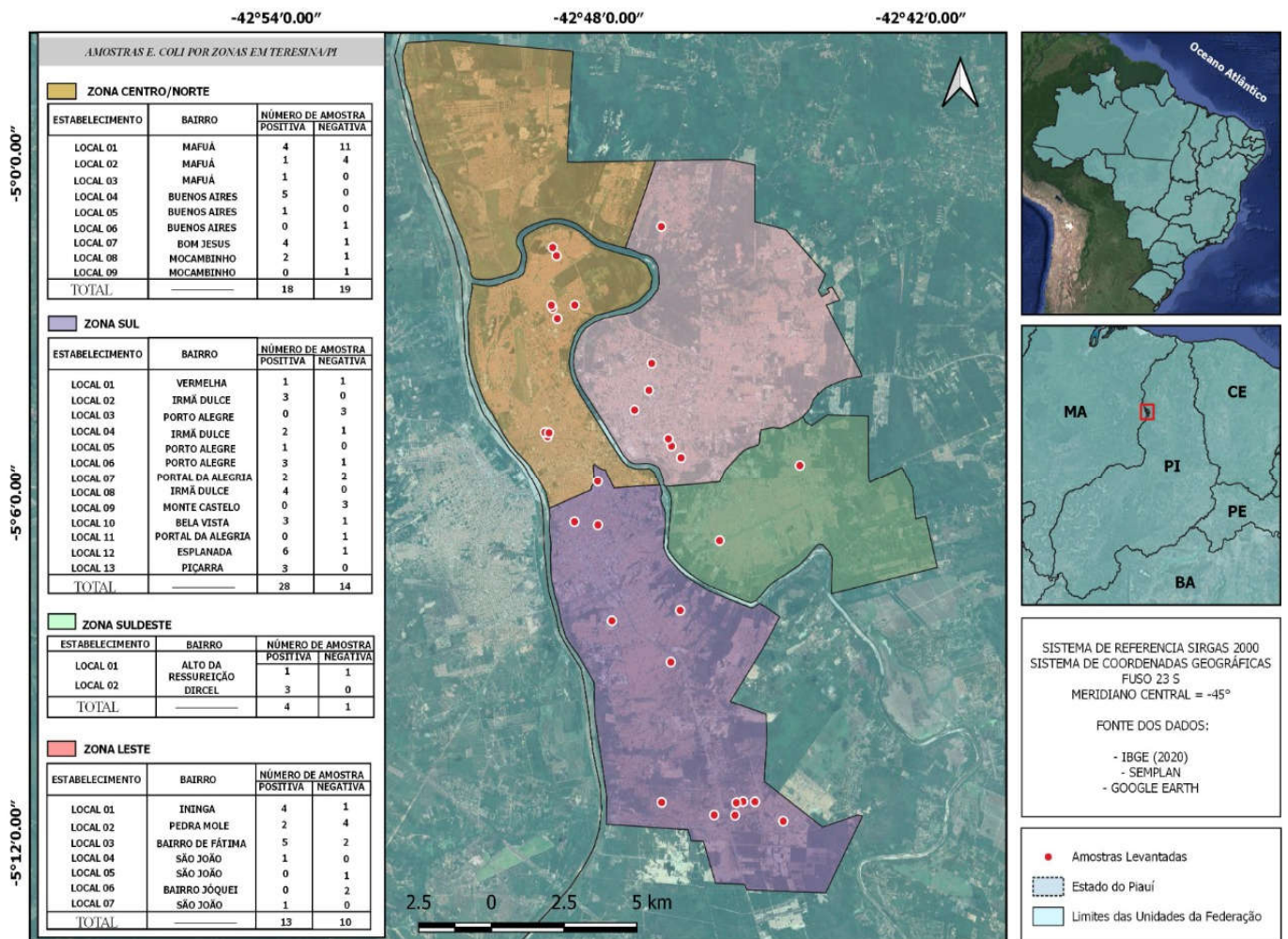
regiões da cidade (zona leste, zona norte, zona sul e zona sudeste) e realizadas no período de 31/10/2019 a 02/02/2021. Após a coleta, as amostras refrigeradas foram imediatamente transportadas, em caixa térmica com controle de temperatura entre 2-8°C, até o Laboratório de Pesquisa em Microbiologia e processadas no mesmo dia. Os critérios de exclusão foram frangos congelados ou que tiveram origem de grandes distribuidoras. As amostras foram avaliadas quanto à presença de *E. coli*, seguido pela caracterização das amostras positivas quanto o reconhecimento sorológico O157, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e análise da presença dos genes *yaiO*, *eae*, *stx1* e *stx2* pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR).

Uma parte da amostra, entre 20-25 g foi colocada em tubo contendo 225 mL de água peptonada tamponada estéril. Após homogeneização, a amostra foi incubada, sob agitação, em estufa a 37 °C durante 18 a 24 h. Para isolamento de colônias suspeitas, com auxílio de uma alça estéril, uma alíquota de cada caldo de enriquecimento, foi semeada em superfície de Ágar Eosina Azul de Metileno (BD, EMB ágar) e incubada a 37 °C por 24 a 48 h. Decorrido o período de incubação, colônias lactose negativas ou positivas, crescidas em EMB, foram submetidas à identificação bioquímica presumida, utilizando os seguintes meios: Triple Sugar Iron Agar – TSI (Kasvi), para observação da fermentação de glicose, lactose e sacarose; Lysine Iron Agar, para observação de descarboxilação da lisina; Meio de SIM, para testes de produção de H<sub>2</sub>S, indol e motilidade; Meio de Citrato, para prova de utilização do substrato; testes estes indispensáveis para a presunção de *E. coli*. As colônias sugestivas de *E. coli* foram cultivadas em Tryptic Soy Agar (TSA) por 24 horas, a 37°C. A avaliação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos foi realizada pelo método de difusão com discos em ágar (BAUER *et al.*, 1966) seguindo as recomendações do CLSI. Foram empregadas as seguintes drogas antimicrobianas: amoxicilina, ampicilina, aztreonam, ceftazidima, cefepime, ceftazidima, ceftriaxona, ertapenem, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, gentamicina, amicacina, sulfametoxazol/trimetopim. O conceito de MDR (cepas multi-droga-resistentes) foi empregado para classificar os isolados que apresentaram não suscetibilidade a pelo menos um agente em três ou mais categorias de antimicrobianos (MAGIORAKOS *et al.*, 2011).

O DNA microbiano foi extraído segundo a técnica proposta por KESKIMAKI *et al.* (2001) com pequenas modificações. O PCR foi realizado os seguintes primers: *stx1*F: CAGTTAA TGTGGTGGCGAAGG; *stx1*R CACCAGACAATGTAACCGCTG; *stx2*F ATCCTATTCGCGGAGTTACG; *stx2*R GCGTCATCGT ATACACAGGAGC; *eae*F AGGCTTCGTACAGTTG; *eae*R CCATCGTCA CCAGAGGA; *yaiO*F TGATTT CCGTG CGTCTGAATG; *yaiO*R ATGCTGCCGTAGCGTGTTC (Fenge Monday, 2000; China *et al.*, 1996, Molina *et al.*, 2015). As amostras positivas para amplificação do gene *yaiO* foram testadas para amplificação dos genes *stx1*, *stx2* e *eae*. Para a reação de amplificação dos genes, foram adicionados a cada 5 µL de DNA extraído, 14,25 µL de água MiliQ; 2,50 µL de Tampão 10X; 0,75 µL de MgCl<sub>2</sub> (50mM); 1,0 µL de dNTP (10mM); 1,00 µL (10pmol) de cada primer; 0,50 µL (5U/µL) de Taq Polimerase, totalizando o volume final de 25,00 µL. As reações de amplificação foram feitas em um termociclador *Life Pro (Bioer Serves life)* nas seguintes condições para todos os genes: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, 35 ciclos de 94°C por 45 segundos para desnaturação, extensão inicial a 52°C por 45 segundos e 72°C por um minuto e uma extensão final a 72°C por 6 minutos. Este estudo foi autorizado pelo CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais) da Universidade Federal do Piauí, com nº de registro 602/19.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**PESQUISA DE *E. Coli*:** Um total de 107 amostras de frangos resfriados de diversos estabelecimentos comerciais da cidade de Teresina-PI foram analisados quanto à presença de *E. coli*. As 107 amostras analisadas foram obtidas em 31 estabelecimentos comerciais ou mercados públicos distribuídos nas zonas centro norte, sul, sudeste e



CLASSE	ANTIMICROBIANO	PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE (N/%)		
		RESISTENTE	INTERMEDIÁRIO	SENSÍVEL
β-lactâmicos	AMP	38 (60,32)	0 (0)	25 (39,68)
	AMC	9 (14,29)	10 (15,87)	44 (69,84)
	CFZ	24 (38,09)	12 (19,04)	27 (42,87)
	CRO	12 (19,04)	1 (1,59)	50 (79,37)
	COM	4 (6,35)	5 (7,93)	54 (85,72)
	CAZ	3 (4,76)	6 (9,52)	54 (85,72)
	ATM	3 (4,76)	3 (4,76)	57 (90,48)
	ETP	0 (0,0)	0 (0,0)	63 (100)
	Quinolonas	NAL	33 (52,38)	7 (11,1)
	CIP	16 (25,40)	12 (19,04)	35 (55,56)
Sufas	SUT	28 (44,44)	0 (0,0)	35 (55,56)
Aminoglicosídeos	GEN	3 (4,76)	4 (6,35)	56 (88,89)
	AMI	0 (0,0)	1 (1,59)	62 (98,41)

AMC: amoxicilina; AMP: ampicilina; ATM: aztreonam; CFZ: cefazolina; CPM: cefepime; CAZ: ceftazidima; CRO: ceftriaxona; ETP: ertapenem; NAL: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacina; SUT: sulfametoxazol/trimetopim; GEN: gentamicina; AMI: amicacina. FONTE: AUTOR, 2021.

Nº	Perfil de multirresistência	Nº de isolados por perfil	%
1	AMP/AMC/CFZ/CRO/COM/CAZ/ATM	1	12,5
2	AMP/AMC/CFZ/NAL/CIP/SUT	1	12,5
3	AMP/CFZ/NAL/CIP	2	25,0
4	AMP/AMC/NAL/SUT	2	25,0
5	AMP/AMC/CFZ/AMI	1	12,5
6	AMP/AMC/NAL	1	12,5
Total:		8	100

FONTE: AUTOR, 2021.

PERFIL	FREQUÊNCIA (N/%)
MDR	35 (55,55)
O157	12 (19,0)
MDR+O157+ESBL	3 (4,76)
stx1	0 (0,0)
stx2	0 (0,0)
Eae	0 (0,0)

FONTE: AUTOR, 2021. \*MDR: Multidrug-resistant

leste de Teresina-PI. Foram analisadas 37 amostras da zona Centro-Norte, 42 amostras da Zona Sul, 5 amostras da zona Sudeste e 23 amostras da zona leste da cidade de Teresina-PI. Cepas de *E. coli* foi identificada em 58,9% (63 de 107) das amostras de frangos resfriados analisados nesse estudo. A presença de *E. coli* é tida como indicação de contaminação fecal direta ou indireta, e possível existência de patógenos entéricos (RAY, 2004). Os resultados desse estudo corroboram com os encontrados na pesquisa de Palma (2020), em que das 121 amostras coletadas em três estabelecimentos, foi identificado a presença de *Escherichia coli* em 44 (36,4%) amostras. No estudo de Cerutti (2018), o percentual de amostras positivas para *E. coli* foi superior aos demais estudos, das 246 carcaças avaliadas 89,8% (221/246) apresentavam colônias típicas em ágar Chromocult. Na década de 90, se viu a necessidade de implementação de regulamentos e normas para garantir a segurança das pessoas que consomem certos tipos de alimentos. Com isso foi implementado o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos (BRASIL, 1997), e o Regulamento técnico de inspeção tecnológica e higiênico sanitária de carne de aves (BRASIL, 1998). Em seguida, em 2006, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece o plano básico de Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APCC) para indústrias de produtos de origem animal visando à eliminação de micr-organismos em carnes de aves (BRASIL, 2006). A manutenção da higiene do abate e o monitoramento regular dos estabelecimentos de carne são essenciais para minimizar o risco de contaminação direta e cruzada da carne, garantindo assim a qualidade do produto e a proteção da saúde pública (KEERATIPIBUL *et al.*, 2010).

**Sorotipagem O157:** Dentre os principais patógenos emergentes em nível mundial, *E. coli* O157:H7 tem ganhado grande destaque nos últimos 20 anos, devido à severidade de seus surtos. *Escherichia coli* O157:H7 é o sorotipo de *E. coli* pertencente ao grupo EHEC mais frequentemente envolvido em surtos de origem alimentar. Das 63 amostras positivas para *E. coli*, obteve-se 12 amostras positivas no teste sorológico para O157, correspondendo a um percentual de 19,05%. O sorotipo O157 continua sendo o mais conhecido patógeno alimentar sendo, sozinho, responsável por cerca de 50% das doenças causadas por STEC na União Europeia. Além disso, esse sorotipo está associado com os casos mais graves de CH e potencialmente fatais como SHU (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2013).

**Suscetibilidade aos antimicrobianos:** Todos os isolados de *E. coli* foram testados quanto à suscetibilidade a diferentes agentes antimicrobianos de importância humana e veterinária, usando o método de difusão em disco (CLSI, 2020). O número e a porcentagem de isolados resistentes aos 13 antimicrobianos utilizados no teste de suscetibilidade. Dentre as amostras analisadas apenas 10 (6,3%) não foram resistentes a nenhum tipo de antibiótico. Apenas os antimicrobianos que não tiveram cepas resistentes a eles foram amicacina e ertapenem. Gonçalves e colaboradores (2012), ao avaliaram o perfil de resistência antimicrobiana 118 cepas de *E. coli* patogênicas isoladas de frangos de corte de um estabelecimento do Rio de Janeiro verificaram que todas as amostras eram sensíveis a amicacina (Tabela I). Os antimicrobianos que apresentaram maior percentual de resistência nesse estudo foram os seguintes: ampicilina, ácido nalidíxico e sulfametoxazol/trimetoprim com percentuais de resistência de 60,31%, 52,38% e 44,44%, respectivamente. Bezerra e colaboradores (2016), também encontraram resistência em isolados de *E. coli* oriundos de frango de corte em Fortaleza, na qual apresentou resistência de 87,3% a ampicilina. Já no estudo de Korb e colaboradores (2015), foi observado resistência a ampicilina em 100% das amostras de *E. coli* isoladas de fezes de frangos de corte criados em sistema intensivo, na cidade de Curitiba-PR. Cardoso e colaboradores (2015), também detectaram alta porcentagem de resistência aos antimicrobiano amoxicilina (96,7%) por cepas de *E. coli* isoladas de aves comerciais na cidade de São Paulo. Entre as escolhas terapêuticas para o tratamento da *E. coli* indicam-se os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos e as fluoroquinolonas (Bergogne-Bérézín, 2006). Nesse estudo, além da alta resistência a ampicilina, observou-se ainda resistência completa e intermediária expressiva aos  $\beta$ -

lactâmicos cefazolina (38,09%; 19,04%), ceftriaxona (19,04%; 1,59%) e a ciprofloxacina (25,4%; 19,04%). Segundo Collignon e colaboradores (2009), o uso intensivo das fluoroquinolonas no tratamento de infecções em humanos e animais tem levado à disseminação da resistência bacteriana. Palma (2020) ao avaliar o perfil de susceptibilidade de cepas de *E. coli* isoladas de ambientes de abatedouros frigoríficos de bovinos e de aves, localizados em Goiás e no Distrito Federal, observou alta resistência ao Ácido Nalidíxico (54,6%) quando as amostras foram isoladas de abatedouros de aves. Esses dados corroboram com os resultados encontrados nesse estudo que o mesmo antibiótico apresentou um percentual de resistência de 52,38%. Estes resultados são similares aos obtidos por Abreu e colaboradores (2010), ao avaliarem isolados de *E. coli* oriundos de carcaças de codornas no Rio de Janeiro, com 60% das cepas resistentes a essa droga. Resultado semelhante também foi verificado por Korb e colaboradores (2015), onde 62% das amostras de *E. coli* isoladas de fezes de frangos de corte, criados em sistema intensivo em Curitiba, apresentaram resistência ao ácido nalidíxico.

É importante ressaltar que estas drogas (tetraciclina, beta lactâmicos, quinolonas e sulfonamidas sistêmicas) foram proibidas para uso como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho ou como conservantes de alimentos para animais em 2009 pela Instrução Normativa nº 26 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). No entanto esses resultados demonstram que ainda se verifica a presença de resistência a esses antimicrobianos e que essa resistência ainda continua circulando nos isolados de *E. coli* na região deste estudo e no Brasil. O terceiro antimicrobiano com maior resistência nesse estudo foi o Sulfametoxazol/Trimetoprim com 44,44 %. O resultado é compatível com o encontrado no estudo de Cardoso e colaboradores (2015) em que o percentual de resistência do mesmo antimicrobiano foi de 58,3%. Em outro estudo, Mohamed e colaboradores (2014), verificaram que 25 cepas de *E. coli* isoladas de frangos de corte, mostraram elevada taxa de resistência aos antimicrobianos, sendo 100% a amoxicilina e a enrofloxacin, 88% a doxiciclina e estreptomicina, e 84% ao sulfametoxazol-trimetoprim, seguido por uma considerável resistência aos demais agentes examinados, assim como o observado no presente trabalho. A resistência a múltiplos antimicrobianos (três ou mais classes de antimicrobianos), identificadas como MDR (multi-drug resistance), foi encontrada em 55,5% dos isolados de *E. coli*. A alta taxa de isolados multirresistentes pode ser um reflexo do uso abusivo desses medicamentos na sociedade e mostra o perigo da utilização de antibióticos como promotor de crescimento em frangos de corte (Torres *et al.*, 2015). Ao analisar a presença de *E. coli* diarréiogênica em alimentos, entre eles produtos cárneos, Faúla e colaboradores (2017) observaram que 13,3% das 220 amostras analisadas apresentavam resistência múltipla. Ainda em relação à multirresistência antimicrobiana em cepas de *E. coli*, um estudo desenvolvido por Agostinho (2018) mostrou um elevado número de isolados provenientes de cama de frango apresentando resistência a três ou mais antimicrobianos (1ª coleta-69,6%; 2ª coleta- 94,1%). Por outro lado, Crecencio (2018), ao analisar isolados de *E. coli* provenientes de carne de frango in natura comercializadas em Chapecó-SP, verificou que 36,3% das cepas eram multirresistentes. Na tabela é apresentado o perfil de multirresistência das cepas de *E. coli* O157. Das 12 cepas de *E. coli* O157 isoladas de frangos 66,66% (8) apresentaram perfil de resistência individual variando de três a sete antimicrobianos, dentre os 13 testados (Tabela II)

A resistência a múltiplos antimicrobianos (três ou mais classes de antimicrobianos), identificadas como MDR (multi-drug resistance), foi encontrada em 55,5% dos isolados de *E. coli*. A alta taxa de isolados multirresistentes pode ser um reflexo do uso abusivo desses medicamentos na sociedade e mostra o perigo da utilização de antibióticos como promotor de crescimento em frangos de corte (TORRES *et al.*, 2015). Ao analisar a presença de *E. coli* diarréiogênica em alimentos, entre eles produtos cárneos, Faúla e colaboradores (2017) observaram que 13,3% das 220 amostras analisadas apresentavam resistência múltipla. Ainda em relação à multirresistência antimicrobiana em cepas de *E. coli*, um estudo desenvolvido por Agostinho (2018) mostrou um elevado número de

isolados provenientes de cama de frango apresentando resistência a três ou mais antimicrobianos (1ª coleta-69,6%; 2ª coleta- 94,1%). Por outro lado, Crecencio (2018), ao analisar isolados de *E. coli* provenientes de carne de frango in natura comercializadas em Chapecó-SP, verificou que 36,3% das cepas eram multirresistentes. Os resultados obtidos neste estudo são de importância para a saúde pública, demonstrando que os frangos consumidos pela população podem estar contaminados com *E. coli* resistentes a antimicrobianos, tornando-se assim uma possível ameaça à saúde pública.

**PESQUISA DOS GENE *yaiO*, *stx1*, *stx2* e *eae* por PCR:** Das 63 amostras analisadas no procedimento de PCR para o gene *yaiO*, todas (63/63) 100% foram confirmadas como *E. coli*. Esses resultados confirmam a alta frequência de *E. coli* nas amostras de carne de frango comercializadas em Teresina-PI. A contaminação por *E. coli* indica falhas durante o processo de evisceração manual ou ainda contaminações cruzadas praticadas durante o abate das aves, visto que o micr-organismo é um indicador de contaminação fecal (SILVA *et al.*, 2010). Das 63 amostras de *E. coli* isoladas de frangos refrigerados nenhuma carregava os genes *stx1*, *stx2* e *eae*. Embora cepas de STEC colonizem o intestino de diversas espécies animais, inclusive aves, e possam contaminar as carcaças no processo de abate, as 107 analisadas indicam com 95% de confiança que STEC não ocorre em prevalência igual ou superior a 1,5% em carcaças de aves comercializadas na cidade de Teresina/PI. Este perfil pode ser justificado pela organização da cadeia agroindustrial brasileira, que mantém um sistema de produção verticalizado com princípios rigorosos de criação animal com regras rígidas de biossegurança, higienização, vazio sanitário e abates que operam com gestão de qualidade e segurança dos alimentos. Observando, é possível ressaltar que apesar de não ter havido a detecção de STEC ou EPEC os dados obtidos no presente estudo preocupam pela presença de diversos mecanismos de resistência e virulência em isolados de *E. coli* obtidos a partir de frangos resfriados. Observou-se que três isolados de *E. coli* O157 associam o fenótipo de multirresistência e produção de beta-lactamase de amplo espectro (Tabela III). Esse perfil de *E. coli* é mais comumente encontrado em isolados de origem clínica e hospitalar, chamando a atenção para o possível risco de transmissão desse patógeno por fontes animais e alimentares. Ramadam e colaboradores (2020), ao analisarem a resistência antimicrobiana, diversidade genética e tipagem de sequências multilocus de isolados de *E. coli* obtidos de humanos, frangos e carne moída observaram a existência de determinantes genéticos comuns entre os isolados, bem como a circulação de STs compartilhadas, que indica uma possível ligação epidemiológica com potenciais riscos zoonóticos.

Embora cepas de STEC colonizem o intestino de diversas espécies animais, inclusive aves, e possam contaminar as carcaças no processo de abate, as 107 analisadas indicam com 95% de confiança que STEC não ocorre em prevalência igual ou superior a 1,5% em carcaças de aves comercializadas na cidade de Teresina/PI. Este perfil pode ser justificado pela organização da cadeia agroindustrial brasileira, que mantém um sistema de produção verticalizado com princípios rigorosos de criação animal com regras rígidas de biossegurança, higienização, vazio sanitário e abates que operam com gestão de qualidade e segurança dos alimentos. Dessa forma, os resultados obtidos são de extrema importância para o Brasil, considerado, tradicionalmente, como um dos maiores produtores e exportadores de carne de frango, justificando a necessidade de monitoramento constante na prevalência, perfil de resistência e virulência desse patógeno.

## CONCLUSION

Há ausência de carcaças de ave contaminadas com *Escherichia coli* produtora de Shiga toxina (STEC) e/ou EPEC, considerando um poder de detecção de prevalência igual ou maior que 1,5% na população amostrada. O presente estudo confere um grau de segurança ao consumidor quanto a não incidência de STEC em carcaças de frangos refrigeradas à nível de prevalência de 1,5% e confiança de 95%.

No entanto, a detecção do sorotipo O157 e a prevalência de isolados multirresistentes alertam para a necessidade constante de monitoramento do perfil de resistência e virulência de *E. coli* em carne de aves e sua relação com a saúde pública.

## ACKNOWLEDGMENT

À Profa. Dra. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso, docente da UFRGS, e sua orientanda Dra. Tatiana Regina Vieira por generosamente nos cederam a cepa CDC 03.3014/026:H11 de *E. coli* utilizadas como controle positivo para os genes *eae*, *stx1* e *stx2*.

## REFERENCES

- Abreu, D. L. D. C., Franco, R. M., Nascimento, E. R. D., Pereira, V. L. D. A., Alves, F. M. X., & Almeida, J. F. D. (2010). Perfil de sensibilidade antimicrobiana e detecção do gene ISS pela reação em cadeia da polimerase na tipificação de *Escherichia coli* patogênica em codornas de corte sob inspeção sanitária. In *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 30, pp. 406-410. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/kxhzbST6qq4CbJrTWVp/abstract/?lang=pt>.
- Agostinho, J. M. A. (2018). Caracterização e padrões de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas da cama de frango após tratamento de compostagem. 2018. Tese de Doutorado em Microbiologia Agropecuária. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/180386>. Acesso em: 2 maio 2021.
- Alikhani, MY, Hashemi, SH, Aslani, MM, & Farajnia, S. (2013). Prevalência e padrões de resistência a antibióticos de *Escherichia coli* diarreio gênica isolada de adolescentes e adultos em Hamedan, oeste do Irã. In *Iranian journal of microbiology*, 5 (1), pp. 42-47. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3577554/>.
- Andreatti Filho, R. L., Marietto-Gonçalves, G. A., Okamoto, A. S., & Lima, E. T. D. (2011). Comparação de métodos para extração de DNA na reação em cadeia da polimerase para detecção de *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis em produtos avícolas. *Ciência Animal Brasileira*, 115-119. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/3774>. Acesso em: 8 fev. 2021.
- Angulo, F. J., Collignon, P., Powers, J. H., Chiller, T. M., Aidara-Kane, A., & Aarestrup, F. M. (2009). World Health Organization ranking of antimicrobials according to their importance in human medicine: a critical step for developing risk management strategies for the use of antimicrobials in food production animals. In *Clinical infectious diseases*, 49(1), pp. 132-141. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/49/1/132/371374>.
- AviSite. In: Portal da avicultura. Disponível em: <https://www.avisite.com.br/>. Acesso em: 28 nov. 2015.
- Bergogne-Bérézin, E. (2006). Antibiothérapie des infections urinaires basses: bases cliniques, microbiologiques et pharmacologiques. In *Antibiotiques*, 8(1), pp. 51-62.
- Bezerra, W. G. A., da Silva, I. N. G., Vasconcelos, R. H., Machado, D. N., de Souza Lopes, E., Lima, S. V. G., ... & Maciel, W. C. (2016). Isolation and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (O: 6, 8) in broiler chickens. In *Acta Scientiae Veterinariae*, 44, pp. 1-7.
- Brasil. (1997). Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições higiênicas-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. 1997. Disponível em: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/bra150035.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2021.
- Brasil. (1998). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico de inspeção tecnológica e higiênica sanitária de carne de aves. Diário Oficial da União: Brasília, DF, 1998. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Portaria->

- 210\_000h19kjan02wx7ha0e2uuw60rmjy11.pdf. Acesso em: 24 abr. 2021.
- Brasil. (2006). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 668, de 19 de setembro de 2006. Instituem Diretrizes para preparação de Plano de APPCC para o processo de abate de aves. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, 2006. Disponível em: [https://www2.sag.gov.br/pecuaria/estabelecimentos\\_habilitados\\_exportar/normativa/Brasil/circular\\_668\\_2006.doc](https://www2.sag.gov.br/pecuaria/estabelecimentos_habilitados_exportar/normativa/Brasil/circular_668_2006.doc). Acesso em: 2 maio. 2021.
- Brasil.(2003). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. 2003. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html> . Acesso em: 24 abr. 2021.
- Brasil. (2016a) In: Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/animal/especies/aves>.
- Brasil. (2016b) In: Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em : <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/animal/especies/aves>.
- Cardoso, A. L. S. P., Kanashiro, A. M. I., Stoppa, G. F. Z., de Castro, A. G. M., Luciano, R. L., & Tessari, E. N. C. (2015). Avaliação do perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isolada de aves comerciais. In Revista Eletrônica Nutritime, artigo, 297, pp. 3980-3988. Disponível em: <https://www.nutritime.com.br/site/wp-content/uploads/2020/02/Artigo-320.pdf>.
- Centers For Disease Control And Prevention. National notifiable diseases surveillance system. Atlanta, 2018. Disponível em: <https://www.cdc.gov/nndss/conditions/shiga-toxin-producing-escherichia-coli/definition/2018>. Acesso em: 1 jun. 2018.
- Cerutti, M. F. (2018). Pesquisa de *Escherichia coli* produtora de Shiga toxina (STEC) em carcaças de aves comercializadas no município de Xanxerê-SC. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/184883>. Acesso em: 17 jul.2021.
- CLSI. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28. ed. CLSI Supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. Disponível em: <https://clsi.org/> Acesso em: 16 maio 2021.
- CLSI. (2020). Clinical And Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 30th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2020. Disponível em: <https://clsi.org/>. Acesso em: 16 maio 2021.
- Crecencio, R. B. (2018). Caracterização genotípica de patogenicidade e resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* provenientes de carne de frango. 2018. Dissertação de Mestrado em Zootecnia. Universidade do Estado de Santa Catarina, Chapecó. Disponível em: <https://sistemabu.udesc.br/pergamumweb/vinculos/000046/00004662.pdf>. Acesso em: 2 maio 2021.
- European Food Safety Authority. (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. In EFSA Journal, Parma, 14(12), pp. 1- 231. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4634>. Acesso em: 26 fev. 2021.
- Faúla, L. L., Cerqueira, M. M. O. P., & Magalhães, P. P. (2017). Perfil de susceptibilidade antimicrobiana e identificação de patótipos diarreogênicos entre amostras de *Escherichia coli* isoladas de alimentos. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, 24(2). Disponível em: <https://periodicos.uff.br/rbcv/article/view/7734>.
- Feng, P.C, Jinneman, K., Scheutz, F., & Monday, S.R. (2011). Especificidade de PCR e ensaios sorológicos na detecção de subtipos de toxina Shiga de *Escherichia coli*. In Microbiologia aplicada e ambiental, 77 (18), pp. 6699–6702. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.00370-11>.
- Gebreyes, W. A., Wittum, T., Habing, G., Alali, W., Usui, M., & Suzuki, S. (2017). Spread of antibiotic resistance in food animal production systems. In Foodborne diseases pp. 105-130. Academic Press. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/313351292\\_Spread\\_of\\_Antibiotic\\_Resistance\\_in\\_Food\\_Animal\\_Production\\_Systems](https://www.researchgate.net/publication/313351292_Spread_of_Antibiotic_Resistance_in_Food_Animal_Production_Systems).
- Gonçalves, P. M., Pereira, V., de Cássia Silva, R., Oliveira, L. A., & Nascimento, E. (2012). Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* positiva para gene *iss* em frangos de corte na idade de abate. In Enciclopédia Biosfera, 8(15). Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3700>.
- Isolan, L. W. (2007). Estudo da eficiência da etapa de pré-resfriamento por imersão em água no controle da qualidade microbiológica de carcaças de frango. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/13205>. Acesso em: 27 fev. 2021.
- Jafari, F., Hamidian, M., Rezadehbashi, M., Doyle, M., Salmanzadeh-Ahrabi, S., Derakhshan, F., & Reza Zali, M. (2009). Prevalence and antimicrobial resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* species associated with acute diarrhea in Tehran, Iran. The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale, 20(3), pp. 56–62. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2009/341275>.
- Karmali, M. A., Gannon, V., & Sargeant, J. M. (2010). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). In Veterinary microbiology, 140(3-4), pp. 360–370. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.04.011>.
- Keeratipibul, S., Meethong, S., Techaruwichit, P., & Thephuttee, N. (2010). Prevalence of *Escherichia coli* and enterococci in a Thai frozen cooked chicken plant, and modeling of the cleaning and sanitizing procedure. In Food Control, 21(8), pp. 1104-1112. DOI:10.1016/j.foodcont.2010.01.003.
- Korb, A., Nazareno, E. R. D., Costa, L. D., Nogueira, K. D. S., Dalsenter, P. R., Tuon, F. F., & Pomba, M. C. (2015). Tipagem molecular e resistência aos antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli* de frangos de corte e de tratadores na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná. In Pesquisa Veterinária Brasileira, 35, pp. 258-264. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/WRf8mxQMGGBPBBdZCRzsp6D/?lang=pt>.
- Loureiro, R. J., Roque, F., Rodrigues, A. T., Herdeiro, M. T., & Ramalheira, E. (2016). O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. Revista Portuguesa de saúde pública, 34(1), pp. 77-84. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rpsp.2015.11.003>.
- Magiorakos, AP, Srinivasan, A., Carey, RB, Carmeli, Y., Falagas, ME, Giske, CG, ... & Monnet, DL (2012). Bactérias multirresistentes, extensivamente resistentes a drogas e pandrogas: uma proposta internacional de especialistas para definições de padrões provisórios para resistência adquirida. *Microbiologia clínica e infecção*, 18 (3), 268-281. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14616323>
- Mani-López, E.; García, H. S.; López-Malo, A. (2012). Organic acids as antimicrobials to 1036 control *Salmonella* in meat and poultry products. In Food Research International. 45(1037), pp.713-721. Disponível em: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/567658>.
- Modi, C. M., Mody, S. K., Patel, H. B., Dudhatra, G. B., Kumar, A., & Sheikh, T. J. (2011). Growth promoting use of antimicrobial agents in animals. J Appl Pharm Sci, 1(08), pp. 33-6. Disponível em: [https://japsonline.com/admin/php/uploads/208\\_pdf.pdf](https://japsonline.com/admin/php/uploads/208_pdf.pdf).
- Mohamed, M. A., Shehata, M. A., & Rafeek, E. (2014). Virulence genes content and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from broiler chickens. Veterinary Medicine International, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/195189>.
- Mora, A., Blanco, J. E., Blanco, M., Alonso, M. P., Dhahi, G., Echeita, A., González, E. A., Bernárdez, M. I., & Blanco, J. (2005). Antimicrobial resistance of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 strains isolated from humans, cattle, sheep and food in Spain. In

- Research in microbiology, 156(7), pp. 793–806. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.03.006>.
- Moreno-Bondi, M. C. (2009). Antibiotics in food and environmental samples. In: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(4), pp. 875-876. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-009-3004-5>.
- Navarro, A. R., Moreira, D. F. & Martínez, M. M. (2017). Investigación de Escherichia Coli productor de toxinas Shiga (STEC) en carnes y derivados cárnicos. In *Sanidad Militar*, 73(3), pp. 147-152. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.4321/s1887-85712017000300002>.
- Palma, J. M. (2020). Detecção e caracterização de marcadores de virulência e perfil de resistência antimicrobiana em Escherichia coli isoladas de ambientes de abatedouros frigoríficos de bovinos e de aves no estado do Goiás e Distrito Federal. 2020. Tese de Doutorado. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2020. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/40237>. Acesso em: 19 fev. 2021.
- Ramadan, H., Jackson, C. R., Frye, J. G., Hiott, L. M., Samir, M., Awad, A., & Woodley, T. A. (2020). Antimicrobial Resistance, Genetic Diversity and Multilocus Sequence Typing of Escherichia coli from Humans, Retail Chicken and Ground Beef in Egypt. In *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(5), pp. 357. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens9050357>.
- Ranjbar, R., Masoudimanesh, M., Dehkordi, FS, Jonaidi-Jafari, N., & Rahimi, E. (2017). Escherichia coli produtora de toxina Shiga (Vero) isolada de alimentos hospitalares; fatores de virulência, o-sorogrupos e propriedades de resistência antimicrobiana. *Resistência antimicrobiana e controle de infecção*, 6, 4. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13756-016-0163-y>.
- Rasheed, M. U., Jamil, K., Thajuddin, N., Pasupuleti, M., Ahamed, P., & Muthukumaresan, K. P. (2014). Distribution of the stx1, stx2 and hlyA genes: Antibiotic profiling in Shiga-toxigenic E. coli strains isolated from food sources. In *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 3, pp. 348-361. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/265908540\\_Distribution\\_of\\_the\\_stx1\\_stx2\\_and\\_hlyA\\_genes\\_Antibiotic\\_profiling\\_in\\_Shi\\_ga-toxigenic\\_E\\_coli\\_strains\\_isolated\\_from\\_food\\_sources](https://www.researchgate.net/publication/265908540_Distribution_of_the_stx1_stx2_and_hlyA_genes_Antibiotic_profiling_in_Shi_ga-toxigenic_E_coli_strains_isolated_from_food_sources).
- Ray, B.(2004). “Fundamental food microbiology”, CRC Press, Florida, 3. ed., 2004, pp. 429. Disponível em: <http://nuristianah.lecture.ub.ac.id/files/2014/09/fundamental-food-microbiology.pdf>.
- Santos, M. M. (2012). Resistência antimicrobiana em cepas bacterianas isoladas de celulite 1155 aviária. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2012. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/11216>.
- Shetty, V. A., Kumar, S. H., Shetty, A. K., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2012). Prevalence and characterization of diarrheagenic Escherichia coli isolated from adults and children in Mangalore, India. In *Journal of laboratory physicians*, 4(1), pp. 24–29. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0974-2727.98666>.
- Silva, N., Junqueira, V. C. A., de Arruda Silveira, N. F., Taniwaki, M. H., Gomes, R. A. R., & Okazaki, M. M. (2010). Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 4ª ed. São Paulo, SP: Varela, 2010.
- Somda, N. S., Bonkougou, O., Zongo, C., Kagambèga, A., Bassolé, I., Traoré, Y., Mahillon, J., Scippo, M. L., Hounhouigan, J. D., & Savadogo, A. (2018). Safety of ready-to-eat chicken in Burkina Faso: Microbiological quality, antibiotic resistance, and virulence genes in Escherichia coli isolated from chicken samples of Ouagadougou. In *Food science & nutrition*, 6(4), pp. 1077–1084. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/fsn3.650>.
- Torres, R.N.S.; Dreher, A.; Simioni, T.A. Uso de antibióticos como promotor de crescimento e seus possíveis substitutos ao seu uso em frangos de corte. *Nutritime Revista Eletrônica, (Viçosa)*, 2015, 12(6):4348-4358. Disponível em: <https://www.nutritime.com.br/site/wp-content/uploads/2020/02/Artigo-336.pdf>
- Wang, F., Jiang, L., & Ge, B. (2012). Loop-mediated isothermal amplification assays for detecting Shiga toxin-producing Escherichia coli in ground beef and human stools. In *Journal of clinical microbiology*, 50(1), pp. 91-97. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JCM.05612-11>.
- Westerholt, S., Pieper, A. K., Griebel, M., Volk, H. D., Hartung, T., & Oberhoffer, R. (2003). Characterization of the cytokine immune response in children who have experienced an episode of typical hemolytic-uremic syndrome. In *Clinical and Vaccine Immunology*, 10(6), pp. 1090-1095. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cdli.10.6.1090-1095.2003?permanently=true>.
- Zhao, L., Dong, Y. H., & Wang, H. (2010). Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. In *The Science of the total environment*, 408(5), pp. 1069–1075. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.014>.

\*\*\*\*\*