

PERFIL FENOTÍPICO E GENOTÍPICO DA RESISTÊNCIA A COLISTINA EM ISOLADOS DE *Escherichia coli* DE CARNE DE FRANGO

Angélica Frigo¹, Regiane Boaretto Crescencio³, Maiara Cristiane Brisola³, Gilneia da Rosa⁴, Igor Ricardo Savoldi⁴, Luana Rampazzo², Denise Nunes Araujo⁵, Lenita Moura Stefani⁶

¹ Acadêmica do Curso de Zootecnia, UDESC Oeste- bolsista PIBIC/CNPq

² Acadêmica do Curso de Zootecnia, UDESC Oeste

³ Mestre do Programa de Pós-graduação em Zootecnia - UDESC-Oeste

⁴ Mestranda do Programa de Pós-graduação em Zootecnia - UDESC-Oeste

⁵ Orientadora, Departamento de Zootecnia, UDESC Oeste – E-mail: denise.araujo@udesc.br

⁶ Co-orientadora, Departamento de Ciência e Tecnologia, CEAD/UDESC

Palavras-chave: Carne de frango. *Enterobacteriaceae*. *mcr-1*. Melhorador de desempenho.

Introdução

A colistina é um antibiótico bactericida descoberto em 1947. É um dos únicos fármacos ainda eficientes para tratamentos de infecções causadas por microrganismos Gram-negativos multirresistentes. Na produção animal, a colistina foi amplamente utilizada na alimentação como melhorador de desempenho até meados de 2016. Entretanto, o uso indiscriminado desse agente antimicrobiano tem provocado o surgimento de bactérias multirresistentes e a disseminação rápida de genes de resistência, via plasmídeo, como é o caso do gene *mcr-1* responsável pela resistência a colistina em bactérias da família *Enterobacteriaceae*. Essa rápida disseminação tem levado a uma preocupação global na saúde pública, devido a sua importância na medicina humana. Diante disso, objetivou-se com este estudo isolar cepas de *Escherichia coli* de amostras de carne de frango comercializadas nos supermercados da região de Chapecó-SC, e detectar a partir destes isolados, a incidência de resistência ao antibiótico colistina e detectar a presença do gene *mcr-1* nestes isolados resistentes.

Material e Métodos

As análises ocorreram no Laboratório de Biologia Molecular, Imunologia e Microbiologia (LABMIM) localizado no campus da UDESC-Oeste, no município de Chapecó, SC. Inicialmente houve o isolamento da *Escherichia coli* de 150 amostras de diferentes cortes de carnes de frango provenientes dos supermercados da região oeste do estado, e em seguida a confirmação por testes bioquímicos. As cepas que apresentaram resultado positivo para a *E.coli* nos testes bioquímicos foram submetidas ao teste de disco difusão para averiguar a resistência dessas bactérias ao antibiótico colistina (10 µg). Dos isolados resistentes foi extraído o DNA pelo método de ebulição, seguindo a metodologia proposta por Ribeiro Junior et al. (2016), e em seguida realizada a PCR (Reação da Cadeia de Polimerase) convencional na qual utilizou-se na reação água ultra-pura, superMix (Mg²⁺, dNTPs, tampão e Taq Polimerase), um par de *primers* (F) AGTCCGTTTGGTCTTGTGGC e (R) AGATCCTTGGTCTCGGCTTG específicos para o gene pesquisado e DNA extraído de cada isolado. Os produtos da PCR foram adicionados ao gel de agarose (1,5%), corado com Brometo de etídeo e com marcador de peso molecular de 100 pb,

após o término da eletroforese, o gel foi analisado sob luz ultravioleta comparando os produtos da amplificação com o padrão de peso molecular.

Resultados e discussão

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de estatística descritiva para avaliar os percentuais de isolados e a susceptibilidade destes no teste de disco-difusão e qualificação da presença do gene de resistência *mcr-1*. Como resultados, a *E. coli* foi isolada de 88 amostras de carne de frango (88/150 – 58,6%), destas 38 (38/88 – 43,18%) apresentaram resistência frente ao antimicrobiano colistina. O gene *mcr-1* foi observado em 16 isolados de *E. coli* resistentes a colistina (16/38 – 42,10%).

Após a descoberta do gene *mcr-1* na China, muitos pesquisadores têm se dedicado a encontrar cepas de *Enterobacteriaceas* resistentes a colistina e que carregam o gene *mcr* e suas variantes. Monte et al. (2017), foram os primeiros a identificar o gene *mcr-1* em *E. coli* resistentes a colistina, em carne de frango brasileira. Estes autores coletaram 41 amostras deste produto nos supermercados da região de São Paulo no ano de 2016 e verificaram que 8 (19,5%) isolados *E.coli* resistentes a colistina continham o gene *mcr-1*. Corroborando com o percentual encontrado no presente estudo, onde o gene *mcr-1* foi identificado em 18,2% dos 88 isolados de *E.coli*. Porém se compararmos com o estudo realizado na Região Sul do Brasil, onde apenas 3 cepas de 409 isolados de *E.coli* provenientes de carcaça de frango refrigerada, apresentaram o gene *mcr-1*, sendo uma cepa correspondente a cada estado (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) (CYOIA et al., 2019), o presente trabalho apresentou um percentual muito mais relevante e preocupante em relação a incidência desse gene em carnes de frango comercializadas na região sul do Brasil. Esse fato é ainda mais relevante, quando levamos em consideração que o Brasil é o segundo maior produtor e maior exportador dessa proteína, aliado a questão de que a carne de frango é uma das mais consumidas mundialmente, com perspectiva de aumentar o consumo *per capita* em torno de 10% em 2025.

Conclusão

Diante dos resultados obtidos, podemos concluir que a carne de frango comercializada em supermercados da região de Chapecó, pode ser um importante veículo de transmissão de *E. coli* resistente a colistina, bem como para a disseminação do gene *mcr-1* para humanos via cadeia alimentar, caso essa proteína não seja manuseada e consumida de forma adequada.

Referências

- CYOIA, P. S et al. Distribution of ExPEC virulence factors, *blaCTX-M*, *fosA3*, and *mcr-1* in *Escherichia coli* isolated from commercialized chicken carcasses. **Frontiers in Microbiology**, [s.l.], v. 9, p.1-9, 2019.
- MONTE, D. F et al. Chicken meat as a reservoir of colistin-resistant *Escherichia coli* strains carrying *mcr-1* genes in South America. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 5, p.1-12, 2017.
- RIBEIRO JUNIOR, J. C et al. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. **Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 37, n. 5, p.3069-3078, 26 out. 2016.