



UFBA



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

ALINE BATISTA LEITE

SOROLOGIA, RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ISOLADOS DE *Escherichia coli* OBTIDOS DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL.

SALVADOR

2016

ALINE BATISTA LEITE

SOROLOGIA, RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ISOLADOS DE *Escherichia coli* OBTIDOS DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL.

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a Dr^a Alaíse Gil Guimarães

Co-orientador: Prof. Dr. Maurício Costa Alves da Silva

SALVADOR

2016

Sistema de Bibliotecas - UFBA

Leite, Aline Batista.

Sorologia, resistência antimicrobiana e presença de betalactamase de espectro estendido em isolados de *Escherichia coli* obtidos de produtos de origem animal / Aline Batista Leite. - 2016.

74 f.: il.

Inclui apêndices.

Orientadora: Profª. Drª. Aláise Gil Guimarães.

Co-orientador: Prof. Dr. Maurício Costa Alves da Silva.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

ALINE BATISTA LEITE

SOROLOGIA, RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE
BETALACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ISOLADOS DE
Escherichia coli OBTIDOS DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 30 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Alaíse Gil Guimarães
Universidade Federal da Bahia
Orientadora

Dr. Cleber Alberto Schmidt
Universidade Federal da Bahia

Dr. Evandro Leite de Souza
Universidade Federal da Paraíba

NOTA DE ESCLARECIMENTO

Cabe esclarecer que, neste trabalho, cada um dos capítulos apresenta uma formatação própria. Isso se deve às diferentes exigências de cada um dos periódicos para os quais foram submetidos os conteúdos aqui presentes.

O Capítulo I segue as normas da ABNT, pois a dissertação encontra-se à disposição na Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa, da Universidade Federal da Bahia.

O Capítulo II segue as normas da Revista Cadernos de Prospecção.

O Capítulo III atende às normas do periódico *Journal of Food Safety*.

ALINE BATISTA LEITE

SOROLOGIA, RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ISOLADOS DE *Escherichia coli* OBTIDOS DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL.

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em _____ de _____ de _____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alaíse Gil Guimarães – UFBA

Prof. Dr. Evandro Leite de Souza – UFPB

Prof. Dr. Cleber Alberto Schmidt – UFBA

Dedico este trabalho a meus pais e a meu amado Daniel, pelo apoio e incentivo incondicionais e incessantes.

AGRADECIMENTOS

A Deus, acima de tudo, por tudo.

A meus pais, Ana e Adilton, pelo apoio incondicional, e por terem fornecido toda a estrutura necessária para que esse objetivo fosse alcançado.

A Daniel, meu amor, por todo o incentivo, toda a ajuda, todo o companheirismo e toda a compreensão nessa fase de minha vida.

A todos os familiares e amigos, pelo incentivo e por entenderem meus momentos de ausência.

A meus orientadores, Alaíse e Maurício, por mostrarem o caminho.

A Andréa, à Profa. Dra. Evânia, ao Prof. Dr. Evandro, e ao Prof. Dr. Cleber pelas valiosas contribuições.

À equipe do Laboratório de Estudos em Microbiologia de Alimentos – LEMA –, em especial, a Cezar, Priscila, Débora, Marcelle, Lucas e Rafael. Vocês tornaram tudo isso verdadeiramente possível. Muito obrigada!

À Profa. Dra. Lia Fernandes, por ter cedido a estrutura do Laboratório de Sanidade Avícola da Universidade Federal da Bahia para que parte das análises fosse executada.

À MV Ms. Daniela Benevides e ao Laboratório de Sanidade Animal da Agência de Defesa Agropecuária da Bahia, na pessoa da MV Ms. Marília Lima Costa, por terem fornecido os isolados usados neste estudo.

Ao Laboratório de Microbiologia Clínica da Universidade Federal da Bahia, por ter cedido os isolados controle.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro ao projeto.

Muito Obrigada!

“No Egito, as bibliotecas eram chamadas ‘Tesouro dos remédios da alma’. De fato é nelas que se cura a ignorância, a mais perigosa das enfermidades e a origem de todas as outras.”

Jacques Bossuet (1627-1704)

RESUMO

Escherichia coli é um dos micro-organismos mais frequentemente envolvidos em surtos de doenças veiculadas por alimentos no Brasil, e tem como um dos principais mecanismos de resistência antimicrobiana a produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBL). Entretanto, o papel da cadeia alimentar na disseminação de bactérias produtoras de ESBL ainda é pouco estudado no Brasil. O objetivo desse estudo foi identificar os sorotipos, analisar o perfil de resistência a antimicrobianos e a capacidade de produção de ESBL em isolados de *E. coli* oriundos de alimentos de origem animal. Foram analisados 105 isolados obtidos de amostras de leite, carnes de pescado, bovino, frango e suíno e seus derivados, coletadas na Bahia, entre 2006 e 2013. A prova de sorologia foi realizada em 101 isolados, utilizando a técnica da prova de aglutinação em lâmina, para identificação de *E. coli* enteropatogênica (EPEC), enteroinvasiva (EIEC) e entero-hemorrágica (EHEC). Para a determinação do perfil de resistência a diferentes antibióticos, foi empregado o teste de disco-difusão. Para o teste confirmatório para produção de ESBL foi utilizado o método de DDST (*double disk synergy test*). Identificou-se 13% (13/101) de isolados de *E. coli* diarreiogênica (DEC), os quais foram resistentes principalmente a amoxicilina e ampicilina, e em sua maioria foram oriundos de amostras de carne de frango. Observou-se multirresistência (resistência a ≥ 3 antibióticos) em 48,5% (51/105) dos isolados analisados, sendo a maior frequência observada entre aqueles oriundos de carne de frango e derivados (41/61, 67%). As maiores frequências de resistência foram observadas frente à tetraciclina (60/105, 57%), amoxicilina (45/105, 43%) e ampicilina (44/105, 42%); enquanto as maiores frequências de sensibilidade foram observadas frente à amicacina (102/105, 97%), imipenem (94/105, 89%) e gentamicina (93/105, 88%). Doze por cento (13/105) dos isolados foram positivos para ESBL, sendo 92% (12/13) destes oriundos de carne de frango, os quais foram resistentes principalmente a cefalotina, ampicilina e amoxicilina. Conclui-se, portanto, que a população brasileira, por meio da alimentação, expõe-se constantemente a micro-organismos patogênicos resistentes a antimicrobianos frequentemente utilizados na medicina humana, o que reduz as chances de sucesso da antibioticoterapia. Além disso, a carne de frango confere grande risco ao consumidor, visto que apresentou maior prevalência de DEC, de isolados multirresistentes e de isolados de *E. coli* produtores de ESBL. Posto que atualmente a oferta de alimentos se dá por meio do comércio internacional, estes resultados podem ser importantes não só para o Brasil, mas também para outros países.

Palavras-chave: Enterobacteriaceae. Multirresistência. ESBL. Produtos de origem animal.

ABSTRACT

Escherichia coli is one of the microorganisms most frequently involved in outbreaks of foodborne diseases in Brazil, and extended-spectrum β -lactamases (ESBL) is one of its main antimicrobial resistance mechanisms. However, the role of the food chain in the ESBL-producing bacteria dissemination is still poorly studied in Brazil. The aim of this study was to identify the serotypes, analyze the antimicrobial resistance profile and the ESBL production capacity in *E. coli* isolates derived from animal foods. It were analyzed 105 isolates obtained from milk samples, fish meat, beef, chicken and pork and its derivatives, collected in Bahia between 2006 and 2013. The serology test was performed on 101 isolates using the slide agglutination test for identification of enteropathogenic (EPEC), enteroinvasive (EIEC) and enterohemorrhagic (EHEC) *E. coli*. For the determination of resistance profile towards different antibiotics, the disk diffusion test was applied. For ESBL production confirmatory test it was used DDST method (double disk synergy test). Thirteen percent (13/101) of isolates were diarrheagenic *E. coli* (DEC), which were particularly resistant to amoxicillin and ampicillin, and it were mostly derived from chicken meat samples. Among all isolates analyzed, 48.5% (51/105) were multiresistant (resistant to ≥ 3 antibiotics), most of them coming from chicken (41/61, 67%). The highest frequencies of resistance were observed towards tetracycline (60/105, 57%), amoxicillin (45/105, 43%) and ampicillin (44/105, 42%); while highest frequencies of sensitivity were observed towards amikacin (102/105, 97%), imipenem (94/105, 89%) and gentamicin (93/105, 88%). Twelve percent (13/105) of the isolates were positive for ESBL, 92% (12/13) of these coming from chicken, which were mostly resistant to cephalothin, ampicillin and amoxycillin. It follows, therefore, that the Brazilian population, by feeding, is constantly exposed to pathogenic microorganisms resistant to antimicrobial agents commonly used in human medicine, which reduces the chances of success of antibiotic therapy. Besides, poultry meat gives great risk to the consumer, as they showed higher prevalence of DEC, multidrug-resistant isolates and ESBL-producing *E. coli*. Given that the food supply is currently due to international trade, these results may be important not only for Brazil but also for other countries.

Key-words: Enterobacteriaceae. Multidrug resistance. ESBL. Products of animal origin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO II

- Gráfico 1 - Distribuição por ano dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food*. 42
- Gráfico 2 - Distribuição dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food* dentre os 20 principais países. 43
- Gráfico 3 - Distribuição dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food* entre as dez principais instituições. 44
- Gráfico 4 - Principais autores dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food*. 44
- Gráfico 5 - Distribuição dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food* entre os dez principais periódicos. 45
- Gráfico 6 - Distribuição dos 98 artigos cujo tema abordado corresponde à pesquisa de ESBL, *E. coli* e *food* na plataforma *Scopus*, por origem dos isolados estudados. 46
- Gráfico 7 - Distribuição por micro-organismos dos 98 artigos cujo tema abordado corresponde à pesquisa de ESBL, *E. coli* e *food* na plataforma *Scopus*. 47

CAPÍTULO III

- Figura 1 - *Double-disc synergy test* (DDST). 60

LISTA DE QUADROS E TABELAS

CAPÍTULO II

- Quadro 1 - Escopo das pesquisas realizadas nas plataformas *Web of Science*, *ScienceDirect*, *Scopus* e *Scielo* quanto à presença de *E. coli* produtora de ESBL em alimentos. 40

CAPÍTULO III

- Tabela 1 - Percentagem de resistência de isolados diarreiogênicos de *E. coli* provenientes de produtos de origem animal frente a 14 antimicrobianos. 61
- Tabela 2 - Taxas de suscetibilidade de 105 isolados de *E. coli*, provenientes de produtos de origem animal, frente a 14 antibióticos. 62
- Tabela 3 - Porcentagem de resistência de 105 isolados de *E. coli*, provenientes de produtos de origem animal, frente a 14 antibióticos, separados por espécie. 63
- Tabela 4 - Taxas de suscetibilidade dos 13 isolados de *E. coli* produtores de beta-lactamases de amplo espectro (ESBL) frente a 14 antibióticos testados. 67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/E	<i>attaching and effacing</i>
BFP	<i>bundle-forming pilus</i>
CF	fatores de colonização
DAEC	<i>E. coli</i> difusamente aderente
DEC	<i>E. coli</i> diarreiogênica
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EAF	EPEC <i>adherence factor</i>
EaggEC ou EAEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
EHEC	<i>E. coli</i> entero-hemorrágica
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasiva
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica
ESBL	β -lactamase de espectro estendido
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigênica
ExPEC	<i>E. coli</i> extraintestinal
GCC	guanilil ciclase C
HUS	síndrome urêmica hemolítica
LEE	<i>locus of enterocyte effacement</i>
LT	toxinas termolábeis
MNEC	<i>E. coli</i> associada a meningite
ST	toxinas termoestáveis
UPEC	<i>E. coli</i> uropatogênica

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
OBJETIVOS	15
CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA.....	16
REVISÃO DE LITERATURA	18
1 <i>Escherichia coli</i>	18
2 Resíduos antibióticos x Resistência	20
3 β -lactamase de espectro estendido (ESBL)	25
REFERÊNCIAS	29
CAPÍTULO II - PRESENÇA DE <i>Escherichia coli</i> PRODUTORA DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ALIMENTOS: ESTUDO PROSPECTIVO	36
RESUMO	38
ABSTRACT.....	38
1 INTRODUÇÃO	39
2 MATERIAL E MÉTODOS	40
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4 CONCLUSÃO	47
5 PERSPECTIVAS	47
REFERÊNCIAS	48
CAPÍTULO III - SOROLOGIA, RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ISOLADOS DE <i>Escherichia coli</i> OBTIDOS DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL NO BRASIL	53
ABSTRACT	55
PRACTICAL APPLICATIONS	55
1 INTRODUÇÃO	57
2 MATERIAL E MÉTODOS	58
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4 CONCLUSÃO	67
AGRADECIMENTOS	68
REFERÊNCIAS	69
APÊNDICE A.....	73
APÊNDICE B.....	74

INTRODUÇÃO

Desde a década de 1940, quando a penicilina começou a ser distribuída, os antibióticos já foram utilizados para os mais diversos propósitos, tais como profilaxia, tratamento de doenças em humanos e animais e promoção de crescimento animal. Porém, o uso contínuo e equivocado dessas substâncias implicou no surgimento de algumas desvantagens, como a presença de resíduos de antibióticos nos alimentos de origem animal e no ambiente. O contato dos micro-organismos com tais resíduos têm proporcionado a seleção de espécimes resistentes e/ou genes de resistência, tornando muitos dos antibióticos conhecidos ineficientes para o tratamento das mais diversas enfermidades. Por isso, a Organização Mundial de Saúde já considera a resistência antimicrobiana um sério problema de saúde pública (OMS, 2001, 2012; MARSHALL; LEVY, 2011; BARRETO et al., 2012).

Escherichia coli é uma das bactérias comensais do trato gastrointestinal do homem e dos mamíferos, sendo, porém, constantemente reconhecida como agente etiológico de infecções nos mais diversos órgãos e sistemas orgânicos em humanos (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; KONEMANN et al., 2008). A maioria dos isolados de *E. coli* é inócua, porém alguns são capazes de causar graves doenças de origem alimentar, como a síndrome urêmica hemolítica, principalmente em idosos e crianças (OMS, 2011). Além disso, *E. coli* é citada como uma das bactérias mais frequentemente envolvidas em surtos de doença veiculada por alimentos no Brasil, atrás apenas de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* (BRASIL, 2015).

Os antimicrobianos do grupo dos β -lactâmicos têm sido os mais utilizados no tratamento de infecções bacterianas. No entanto, as β -lactamases continuam sendo a causa de resistência a esse grupo de antibióticos e o principal mecanismo de resistência das bactérias Gram-negativas. Devido a isso, novos antibióticos foram desenvolvidos, e a pressão seletiva ocasionou mutações nos genes codificadores das β -lactamases clássicas, ampliando seu espectro de inativação. Surgem, então, as β -lactamases de espectro estendido (ESBL), as quais conferem resistência às penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos. A presença dessas β -lactamases dificulta, portanto, o tratamento das doenças infecciosas, por reduzir as opções da antibioticoterapia. Dentre os micro-organismos com maior produção de ESBL, destacam-se as bactérias *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* (ABREU; GONÇALVES, 2010; KORZENIEWSKA, HARNISZ, 2013).

A literatura demonstra que o trato gastrointestinal de humanos e animais é um importante reservatório de bactérias produtoras de ESBL (TROT, 2013). Assim, uma vez que constantemente se identifica a contaminação de diversos tipos de produtos alimentares por bactérias comensais (dentre as quais pode haver isolados produtores de ESBL), e que a ingestão de tais produtos pode levar à seleção de isolados resistentes e/ou transferência de genes de resistência, faz-se necessário investigar a participação da cadeia alimentar no processo de disseminação de bactérias produtoras de ESBL.

Além disso, no Brasil, frequentemente se identificam estudos que analisam parâmetros diferentes (como sorologia, qualidade microbiológica e físico-química, e perfil de sensibilidade antimicrobiana) em isolados oriundos de um único produto de origem animal, tal como leite ou carne ou algum de seus derivados (KASNOWSKI, 2004; ROSSI et al., 2010; CARRIJO et al., 2011; DE MELO; MIGUEL, 2011; BARRETO et al., 2012; MANTILLA; FRANCO, 2012). No entanto, raros são os estudos no país que comparam a resistência antimicrobiana de isolados de microorganismos provenientes de produtos de diferentes espécies animais.

OBJETIVO GERAL

Identificar sorologicamente, analisar o perfil de resistência a antimicrobianos e a capacidade de produção de ESBL em isolados de *E. coli* oriundos de alimentos de origem animal comercializados na Bahia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Identificar sorologicamente os isolados de *E. coli* circulantes na Bahia
- b) Verificar o perfil de suscetibilidade a antimicrobianos dos isolados de *E. coli*;
- c) Observar fenotipicamente a produção de ESBL.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

Não há conhecimento que não tenha valor.
Edmund Burke (1729-1797)

REVISÃO DE LITERATURA

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli é um membro da família Enterobacteriaceae, do grupo dos micro-organismos coliformes, sendo um bacilo Gram-negativo, anaeróbico facultativo, que se desenvolve a uma temperatura média de 35°C. De modo geral, a *E. coli* se apresenta como bastonete delgado, aos pares, isolados ou formando cadeias, podendo ser pequeno (1,1 – 1,5µm) ou comprido (2,6 – 6,0µm). São móveis ou imóveis, e não esporulados. São oxidase negativa e catalase positiva; o teste de Voges-Proskauer é negativo; usualmente citrato negativo; a hidrólise da ureia é negativa e não produzem H₂S (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

As linhagens de *E. coli* consideradas patogênicas são agrupadas em classes, com base nos seus fatores de virulência, sorotipagem, epidemiologia e manifestações clínicas. Há algumas infecções que são extraintestinais, e cujos isolados relacionados são classificados como ExPEC (*E. coli* que causa infecções extra-intestinais). Como exemplos têm-se *E. coli* uropatogênicas (UPEC), principais causadoras das infecções do trato urinário; e *E. coli* associadas a meningite (MNEC), responsáveis por casos de meningite e sepse. Quanto aos patógenos intestinais, até o momento são conhecidas seis classes: EPEC (*E. coli* enteropatogênica), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), EIEC (*E. coli* enteroinvasiva), EHEC (*E. coli* entero-hemorrágica), EaggEC ou EAEC (*E. coli* entero-agregativa) e DAEC (*E. coli* difusamente aderente) (KAPER; NATARO; MOBLEY; 2004; KASNOWSKI, 2004). Focaremos nesta revisão os três grupos que foram evidenciados no presente trabalho (EPEC, EIEC e EHEC) e o grupo das ETEC, que merecem destaque devido à sua possível participação na prevenção ou tratamento de casos de câncer colo-retal.

Todas as *E. coli* patogênicas apresentam um esquema similar de patogênese, o qual consiste em colonizar a mucosa intestinal, escapar do sistema imunológico, multiplicar-se e causar danos ao hospedeiro. *E. coli* patogênicas, porém, se diferenciam das demais principalmente por sua capacidade de colonizar locais que normalmente não habitam, como o intestino delgado e a uretra, graças a fatores de aderência específicos, tais como fímbrias, intiminas, flagelinas e lipopolissacarídeos (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; CANIZALEZ-ROMAN et al., 2013).

EPEC é um importante micro-organismo causador de gastroenterites em crianças, principalmente nos países em desenvolvimento, e possui um número restrito de sorotipos. A

principal característica histopatológica das EPEC é um fenômeno conhecido por A/E (*attaching and effacing*). Tal fenômeno, codificado pelo gene LEE (*locus of enterocyte effacement*), consiste na agregação de células epiteliais intestinais e posterior obliteração de microvilosidades do intestino, levando à formação de estruturas parecidas com pedestais, onde há acúmulo de actinas polimerizadas, e nas quais as bactérias se alojam. EPEC podem ser consideradas típicas ou atípicas. As típicas, além de possuírem o gene LEE, possuem um plasmídeo chamado EAF (*EPEC adherence factor*), o qual codifica o BFP (*bundle-forming pilus*), que permite a aderência interbacteriana e, possivelmente, a aderência às células epiteliais também. Este tipo é mais frequentemente encontrado nos países desenvolvidos. As atípicas, por outro lado, possuem o gene LEE, mas não o plasmídeo EAF, e são mais frequentes nos países em desenvolvimento (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; GOMES; TRABULSI, 2008).

EIEC é capaz de penetrar na célula intestinal e causar manifestações clínicas semelhantes às infecções causadas por *Shigella* spp., tendo em vista a sua proximidade bioquímica, genética e patogênica. O principal sintoma da infecção por EIEC é a diarreia aquosa, podendo também ocorrer colite inflamatória invasiva e disenteria. Tal patogênese tem início quando a bactéria penetra na célula epitelial, em seguida lisa o vacúolo endocítico e então se multiplica dentro da célula. Estas etapas podem levar macrófagos infectados à apoptose. Após a multiplicação, os micro-organismos se movimentam pelo citoplasma em direção às células adjacentes, com ajuda de microfilamentos de actina que se formam em um dos polos da bactéria, como uma cauda. Na parede das células vizinhas formam-se, então, saliências, as quais formam vacúolos endocíticos, reiniciando o ciclo (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

EHEC causa geralmente colite hemorrágica, a qual pode evoluir para a síndrome urêmica hemolítica (do inglês, HUS), devido a sua capacidade de produzir a enterotoxina Stx. A Stx é inicialmente produzida no cólon (onde também pode causar danos como diarreia sanguinolenta, necrose e perfuração intestinal), e depois pode atingir os rins, por intermédio da corrente sanguínea, onde causa obliteração dos microvasos e danos às células endoteliais renais. Além da Stx, EHEC também possui a ilha de patogenicidade LEE, como EPEC. Muitos sorotipos produzem Stx, mas a maioria não possui o gene LEE. Por isso, apenas os isolados que são Stx-positivos e possuem o LEE são classificados como EHEC (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; GUTH, 2008a).

ETEC é a principal causa da doença conhecida como diarreia dos viajantes, bem como da diarreia infantil, nos países em desenvolvimento. Estes micro-organismos colonizam

a mucosa do intestino delgado, por mediação de fatores de colonização (do inglês, CF) fimbriais ou fibrilares. O mais frequente CF dentre os isolados humanos de ETEC é o CFA (*colonization factor antigen*). Após a colonização, ETEC produz enterotoxinas termolábeis (do inglês, LT) e/ou termoestáveis (do inglês, ST) – semelhantes estrutural e funcionalmente à toxina da cólera –, cuja ação leva ao aumento da secreção intestinal e da diminuição da absorção de água (FRANCO; LANDGRAF, 2008; GUTH, 2008b). As ST são subdivididas em duas classes: STa e STb. Esta última está geralmente associada a casos de diarreia em animais, enquanto a primeira é mais frequente em humanos. Vários estudos sugerem que a STa também é capaz de suprimir a proliferação de células cancerosas no cólon, visto que tal proteína mimetiza os ligantes hormonais da guanilil ciclase C (GCC), a uroguanilina e a guanilina. Esses peptídeos desencadeiam uma cascata de sinalização mediada pela GCC, que leva ao aumento de eletrólitos e água no lúmen do intestino. Além disso, a STa funciona como carreadora de pequenas moléculas terapêuticas ou diagnósticas para dentro da célula cancerígena. Curiosamente, tem-se observado, de fato, uma proporção inversa entre casos de diarreia provocada por EPEC e de câncer de colo-retal, em especial nos países em desenvolvimento (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; WEIGLMEIER; RÖSCH; BERKNER, 2010).

Escherichia coli é responsável por vários surtos de diarreia em crianças e adultos após a ingestão de água e alimentos contaminados, inclusive produtos de origem animal (SILVA et al., 2001). O significado de sua presença nos alimentos deve ser avaliado sob dois aspectos: indica contaminação fecal e, portanto, condições insatisfatórias de higiene durante a manipulação de alimentos e água; e representa um risco à saúde do homem e dos animais, visto que diversas linhagens são comprovadamente patogênicas (KASNOWSKI, 2004; ALVES, 2011). Portanto, a identificação laboratorial da *E. coli* permite sinalizar o risco potencial da ocorrência de doenças veiculadas por alimentos devido ao consumo de alimentos entregues à população em geral (KASNOWSKI, 2004).

2. Resíduos de antibióticos x Resistência

Muito antes de serem utilizados para combater infecções no corpo humano, os antibióticos já eram substâncias produzidas pelo metabolismo de certas bactérias, fungos e actinomicetos. Acredita-se que possuem funções diversas das que são conhecidas atualmente. Em soluções diluídas, essas substâncias podem impossibilitar temporária ou definitivamente as funções vitais de outras bactérias, efeitos conhecidos como bacteriostático e bactericida,

respectivamente. Os antimicrobianos são utilizados há décadas na produção animal tanto para fins de tratamento de doenças quanto de promoção de crescimento dos animais, vindo a auxiliar no aumento da eficiência alimentar e consequente produtividade. Porém, é de conhecimento público que o uso contínuo e indiscriminado dessas substâncias promove a seleção de micro-organismos resistentes, o que retarda, ou mesmo impede, a ação da antibioticoterapia (BRASIL, 1999; MARTINEZ, 2009; ARIAS; CARRILHO, 2012; BARRETO et al., 2012).

Os antimicrobianos em veterinária são usados com quatro finalidades principais:

- Terapêutica: a fim de controlar uma infecção bacteriana já existente;
- Metafilática: tem propósitos terapêuticos e profiláticos. Utilizada especialmente em manejo confinado de um grande número de animais, ministrando-se o medicamento na água ou ração quando um animal apresenta sintomas de uma doença infecciosa, a fim de minimizar o número de animais doentes e/ou mortos e a quantidade de antibiótico necessária para tratar um grande número de animais afetados.
- Profilática: usada em indivíduos ou grupos com o fim de prevenir/evitar a ocorrência de infecções. Exemplo: na profilaxia cirúrgica ou na prevenção de mastite.
- Promotor de crescimento de animais de produção: fornecidos como suplemento alimentar, em doses subterapêuticas. (ARIAS; CARRILHO, 2012; GARCÍA-ALVAREZ et al., 2012; PAPHITOU, 2013)

Em muitos estudos observou-se que o uso de antimicrobianos em animais contribuiu para o desenvolvimento de resistência antimicrobiana em humanos, pois muitas classes de antimicrobianos usadas em animais de produção também são empregadas em seres humanos para tratar doenças graves, ocorrendo falha terapêutica devido à transferência de bactérias resistentes pela cadeia alimentar (MARSHALL; LEVY, 2011; ARIAS; CARRILHO, 2012; ALLEN, 2014). Essa resistência multivariada de isolados de *E. coli* foi relatada por diversos autores, que analisaram diferentes alimentos, como carne bovina, por Mantilla e Franco (2012) e Kasnowski (2004); carne suína por Pissetti (2012); leite *in natura* por Barreto et al (2012); vegetais por Skockova et al (2013) e diversos alimentos por Schroeder (2002) e Sáenz et al (2001).

Em aves, os principais antimicrobianos usados são sulfonamidas, penicilinas, polipeptídeos, lincosamidas, cefalosporinas e quinolonas, enquanto que nos suínos utiliza-se tetraciclinas, sulfonamidas, cefalosporinas, fluorquinolonas e aminoglicosídeos. Já na produção de gado leiteiro, destacam-se a amicacina, ampicilina, carbenicilina, cefalotina, florfenicol, gentamicina, sulfametoxazol-trimetoprima e tetraciclinas, enquanto na piscicultura, os antibióticos mais recomendados são a tetraciclina, a eritromicina e a oxitetraciclina. Esta última é ministrada na ração, para tratamento de furunculose e eritrodermatite da carpa; em camarões, como medida profilática contra o agente da necrose hepatopancreática; bem como nas doenças determinadas por bactérias psicrófilas na septicemia hemorrágica por *Pseudomonas*, *Edwardsiella* e *Aeromonas* (BRASIL, 1999). Outro antimicrobiano bastante utilizado na piscicultura são as fluorquinolonas (ARIAS, CARRILHO, 2012).

O uso contínuo dos antimicrobianos na produção animal, especialmente de maneira metafilática e como promotores de crescimento, implica no surgimento de algumas desvantagens, como a ocorrência de resíduos nos alimentos de origem animal. A exposição prolongada a resíduos de antibióticos pode desencadear fenômenos alérgicos além de alterar o equilíbrio da microbiota do trato intestinal dos consumidores, devido à mudança na densidade e composição da população microbiana e à alteração na atividade metabólica de substâncias endógenas e exógenas e na resistência à colonização. Isso pode aumentar a suscetibilidade dos consumidores a infecções por patógenos exógenos (ex., *Salmonella*) e favorecer tanto a colonização de bactérias patogênicas resistentes quanto o crescimento de micro-organismos autóctones oportunistas, que podem inclusive fazer parte da microbiota normal (ex., *E. coli*) (RIGOS; BITCHAVA; NENGAS, 2010).

Muitos estudos observaram a ocorrência de micro-organismos multirresistentes (resistentes a três ou mais antibióticos) a antimicrobianos comumente empregados na prática veterinária, em particular a ampicilina, trimetoprima, trimetoprima-sulfametoxazol, tetraciclina, sulfonamida e estreptomicina, que são também utilizados em tratamento de diferentes doenças bacterianas em humanos (BII et al., 2005; BADA-ALAMBEDI et al., 2006; CANIZALEZ-ROMAN et al., 2013; BARBOSA et al., 2014; ADENIPEKUN et al., 2015; HEMMATINEZHAD et al., 2015; SHAH et al., 2015)

Ao longo do processo de desenvolvimento de resistência antimicrobiana das bactérias Gram-negativas, observou-se sucessivas descobertas de novos antibióticos seguidas

do surgimento de seus respectivos mecanismos de resistência. O primeiro antibiótico efetivo contra as Enterobacteriaceae foi a ampicilina, lançado em 1961. Sete anos depois, bactérias resistentes a ampicilina foram detectadas em pacientes de um hospital em Londres. Em 1981-82, inicia-se o uso das cefalosporinas (cefotaxima, ceftazidima e ceftriaxona), antimicrobianos desenvolvidos para resistirem às beta-lactamases decodificadas pelos genes *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV}. Apenas dois anos depois, na Alemanha, identificou-se uma beta-lactamase capaz de hidrolisar a cefotaxima, enzima esta que seria posteriormente chamada, por Philippon (1989), de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) (GARCIA-ALVAREZ et al., 2012).

A resistência a antibióticos aparece porque o genoma bacteriano é extremamente dinâmico, embora pequeno. Em geral, as atividades essenciais de uma bactéria são codificadas por um só cromossomo, e as não-essenciais, como a defesa contra drogas e a transferência gênica, que levam à recombinação, são codificadas por elementos móveis (plasmídios, transposons e integrons), que não fazem parte do cromossomo (MOTA et al., 2005). Muitas vezes, os plasmídeos carregam genes de resistência a mais de um antibiótico, o que pode levar à cosseleção de resistência antimicrobiana por suas características associadas, ainda que na ausência de antibióticos (HARADA et al., 2006; MARTINEZ, 2009; GARCIA-ALVAREZ et al., 2012; TROTT, 2013; RASHEED et al., 2014).

O uso de trimetoprima em suínos, por exemplo, contribui para a seleção de resistência a cloranfenicol, mesmo após o banimento de uso do cloranfenicol na produção animal (HARADA et al., 2006; HIROI et al., 2012). Nos EUA, isolados de *E. coli* multirresistentes provenientes de cães domésticos expressavam os genes *pAmpC* CMY-2 e *floR*, que confere resistência a florfenicol e resistência cruzada a cloranfenicol. Esse achado leva a crer na contaminação via consumo de carne, visto que florfenicol só era utilizado para tratamento de infecções em animais de produção (TROTT, 2013). Fluoroquinolonas e beta-lactâmicos costumam gerar cosseleção e seleção cruzada de bactérias resistentes, tanto em animais quanto em humanos, pois os plasmídeos que carregam a ESBL muitas vezes codificam também a resistência a fluoroquinolona (GARCIA-ALVAREZ et al., 2012).

Atualmente já é sabido que a resistência antimicrobiana é um fenômeno natural, que precede o uso dos antimicrobianos para tratamento de infecções em humanos. Acredita-se que serviam para inibir o crescimento da microbiota concorrente, visto que a maioria dos antibióticos utilizados atualmente é sintetizada por micro-organismos ambientais (telúricos), e que possuíam uma função de sinalização intercelular (MARTINEZ, 2009). Por isso, é

possível encontrar genes de resistência mesmo em bactérias não expostas a antimicrobianos (HIROI et al., 2012; ALLEN, 2014).

Há muitos determinantes potenciais de resistência presentes nos micro-organismos ambientais, porém poucos são transferidos para os micro-organismos patogênicos, por diversos motivos: 1) para haver transferência horizontal de genes, é preciso que as bactérias doadora e receptora estejam no mesmo local; assim, apenas os genes que coexistem com os patógenos podem ser incorporados por eles; 2) genes só podem ser transferidos se foram utilizados mecanismos de transferência genética compatíveis com os patógenos humanos; 3) elementos que exigem alto desempenho do micro-organismo hospedeiro só serão adquiridos se mutações compensatórias forem conjuntamente selecionadas; 4) após uma primeira aquisição de material genético, a probabilidade de aquisição de novos elementos por transferência horizontal de genes diminui, a menos que a pressão seletiva de antibióticos sofra alteração (MARTINEZ, 2009).

A situação do uso indiscriminado de antibióticos no tratamento e prevenção de doenças é um problema de saúde animal e pública, uma vez que elevadas taxas de resistência aos antimicrobianos são registradas em estudos realizados nas diferentes espécies animais e no homem. Para amenizar essa situação é necessário realizar campanhas educativas para orientar os profissionais de saúde para a devida utilização desses antimicrobianos e alertar a população quanto ao perigo da ingestão de subdosagens de antibióticos (resíduos) em produtos de origem animal bem como quanto ao uso equivocado dessas substâncias. Uma pesquisa realizada na Europa, em 2009, que entrevistou 26.761 cidadãos, constatou que 40% deles haviam tomado antibiótico nos últimos 12 meses, e que em 20% dos casos foi devido a uma gripe. Somente 36% dos entrevistados responderam corretamente que antibióticos não eliminam vírus, e 46% responderam corretamente que antibióticos não são adequados para tratar gripes e resfriados (MOTA et al., 2005; PAPHITOU, 2013).

Há autores, porém, que afirmam faltar provas científicas de que o uso de antibióticos na alimentação animal acarrete em danos à saúde humana. Outros, apesar de defenderem que o não uso dos antimicrobianos na indústria animal representa um grande prejuízo, sugerem que somente os antibióticos não usados em medicina humana sejam utilizados como promotores de crescimento (SOUSA; SILVA, 2008), e outros chamam a atenção para o perigo do uso dos antibióticos não apenas como promotores de crescimento,

mas também de maneira profilática, metafilática e terapêutica na medicina veterinária (PHILLIPS et al., 2004; GARCIA-ALAVAREZ et al., 2012).

Dessa forma, a resistência antimicrobiana é campo ainda vasto para pesquisa científica, tanto pelas divergências que ainda existem em relação ao tema, quanto pelo surgimento constante de novas drogas, sobre as quais não há informação suficiente que permita uma avaliação toxicológica ou farmacológica adequada, e ainda menos quanto ao comportamento dos micro-organismos diante delas.

3. β -lactamases de espectro estendido (ESBL)

As β -lactamases constituem um grupo heterogêneo de enzimas capazes de inativar as penicilinas, cefalosporinas e, às vezes, os monobactâmicos. Estas enzimas lisam o anel β -lactâmico por hidroxilação irreversível da ligação amida causando a inativação do antibiótico. A atividade enzimática é variável de acordo com o tipo de β -lactamase e os substratos presentes, embora o resultado final de sua ação seja o mesmo (PITOUT; LAUPLAND, 2008).

As β -lactamases são o principal mecanismo de resistência das bactérias Gram-negativas, muitas das quais são mediadas pelo cromossoma. Estas enzimas, denominadas AmpC, parecem ter evoluído a partir das proteínas de ligação à penicilina, tendo em vista sua homologia molecular. A primeira β -lactamase plasmídica (TEM-1) foi encontrada numa *E. coli* isolada a partir de uma cultura de sangue, por volta de 1960, na Grécia, numa paciente de nome Temoniera, daí sua denominação. Devido a essa capacidade das bactérias Gram-negativas de inativarem os antimicrobianos, novos antibióticos foram surgindo, e a pressão seletiva gerou mutações nos genes decodificadores das β -lactamases clássicas, amplificando seu espectro de ação. Os genes de codificação dessas enzimas foram rapidamente disseminados para outras espécies bacterianas (BRADFORD, 2001; PINA, 2012).

O mecanismo genético por trás da disseminação das ESBL pelo mundo ainda é divergente e complicado, porém já se sabe que elementos genéticos móveis, tais como plasmídeos, transposons e integrons, exercem um importante papel nesse processo. Um único plasmídeo de resistência antimicrobiana é suficiente para promover a transferência genética, assim como cada um dos elementos móveis citados. Os plasmídeos que carregam a ESBL podem, por exemplo, ser transferidos para diversas espécies bacterianas por conjugação (CHONG; ITO; KAMIMURA, 2011).

As β -lactamases são comumente classificadas de acordo com dois esquemas gerais: a classificação molecular de Amber e a classificação funcional de Bush-Jacoby-Medeiros. As ESBL encontram-se no grupo A de Amber e 2 de Bush, onde estão presentes as primeiras β -lactamases isoladas (TEM-1 e SHV-1), mais especificamente no subgrupo 2be, que é aquele capaz de inativar as cefalosporinas de terceira geração e os monobactâmicos, além das penicilinas (SHAH et al., 2004).

As ESBL “clássicas” são enzimas transmitidas/codificadas por plasmídios, como as famílias: Temoniera (TEM), Sulfidril variável (SHV) e oxacilina (OXA). Embora estas variantes ainda se mantenham como as mais isoladas, nos últimos anos houve um aumento no aparecimento de outras ESBL. Muitas destas novas ESBL são mutantes das β -lactamases clássicas, com poucos aminoácidos substituídos. Essas trocas foram suficientes para remodelar o sítio ativo e torná-lo capaz de hidrolisar cefalosporinas de amplo espectro (BRADFORD, 2001).

As principais produtoras deste tipo de enzimas são *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli*. Isso se deve não só à existência de vários plasmídeos que contêm genes que codificam ESBL, mas também por serem as bactérias que estão mais adaptadas ao ambiente hospitalar, sobrevivendo algum tempo não apenas nas mãos dos portadores mas também nas superfícies, facilitando assim a contaminação cruzada dentro do hospital (PINA, 2012).

Dentre os principais métodos de identificação das ESBL tem-se: o método da dupla difusão, o método da adição do ácido clavulânico, o *E-test*, além de métodos automatizados e moleculares, como PCR (SHAH et al, 2004).

As primeiras identificações de ESBL se deram no Leste Europeu e na América do Sul, na década de 1980. Desde então, pesquisadores têm observado que isolados sul-americanos de *E. coli* produtoras de ESBL apresentam maior resistência que as europeias, sendo a resistência a cloranfenicol mais frequentemente observada no Brasil. Por outro lado, tem-se constatado que tais isolados ainda são mundialmente sensíveis a imipenem (CHONG; ITO; KAMIMURA, 2011; EGERVÄRN et al., 2014; RASHEED et al., 2014).

A partir da década de 1990, começa a ser isolada uma nova família de ESBL, as CTX-M, cujo número de estudos relatando sua presença tem aumentado mais notadamente nos últimos 10 anos. Enquanto as enzimas TEM e SHV possuíam 68% de semelhança em suas sequências genéticas, a nova CTX-M coincide seus nucleotídeos em apenas 40%

aproximadamente com as suas antecessoras (PHILIPPON, 1989; GARCIA-ALVAREZ et al., 2012). Parece haver uma associação geográfica dos genótipos CTX-M. A CTX-M-14 tem sido a mais frequentemente isolada na Ásia, especialmente na China, enquanto a CTX-M-2 é mais frequente na América do Sul, Holanda e Israel. De maneira geral, o genótipo dominante no mundo tem sido a CTX-M-15, o qual foi isolado pela primeira vez em Nova Délhi, em 2000, e tem sido o mais frequente responsável por infecções urinárias no mundo e por infecções adquiridas na comunidade. Inclusive, a transmissão pessoa-a-pessoa parece ter um papel importante na disseminação desse gene fora do ambiente hospitalar (OTEO; PÉREZ-VASQUEZ; CAMPOS, 2010; CHONG; ITO; KAMIMURA, 2011; GARCÍA-ALVAREZ et al., 2012; SILVA; LINCOPAN, 2012; OJER-USOZ et al., 2014).

Acredita-se, porém, que os principais carreadores do gene *bla*_{CTX-M} sejam os animais, de produção e de estimação (LIEBANA et al., 2013). A resistência por ESBL, de maneira geral, tem sido observada em todas as espécies animais, mas principalmente em frangos (VAN et al., 2008; SKOCKOVA et al., 2015a). *E. coli* produtora de ESBL pode ser transmitida ao homem por contato direto ou indireto, seja por ingestão da carne de frango seja por contato com água e/ou vegetais contaminados por suas fezes (DEPOORTER et al., 2012). Depoorter et al. (2012), avaliando a exposição a *E. coli* resistente às cefalosporinas pela ingestão de carne de frango na Bélgica, identificaram que o risco maior de contaminação é da carcaça inteira se comparado com o frango em pedaços, e que o congelamento diminui a população desses isolados. Foi constatado, ainda, que a probabilidade de exposição a estes isolados ao ingerir a carne de frango é baixa, tendo a contaminação cruzada na cozinha um papel maior na exposição do que o cozimento insuficiente dos alimentos, o que não invalida a importância do cozimento adequado, uma vez que a bactéria pode estar localizada no centro da carne.

Foi baseado nessas informações, e por uma questão de segurança, que a Europa proibiu o uso de cefalosporinas na produção de aves (LIEBANA et al., 2013). Principalmente porque, tendo em vista que os genes decodificadores da ESBL localizam-se geralmente em elementos genéticos móveis, é possível que haja transferência desses genes de bactérias oriundas de alimentos para as bactérias comensais e patogênicas presentes no trato gastrointestinal do homem (DEPOORTER et al., 2012).

Uma importante característica das ESBL, e de impacto significativo na saúde pública, é ser codificada por plasmídeos que carregam também resistência a outros

antimicrobianos, como amoxicilina, sulfonamidas, trimetropim, aminoglicosídeos, e outros, levando a uma resistência cruzada dos isolados (LIEBANA et al., 2013; RASHEED et al., 2014). Por exemplo, plasmídeos que carregam *bla*_{CTX-M} geralmente carregam também o gene *qnr*, que confere resistência às quinolonas. Assim, uma pressão seletiva frente ao uso de fluoroquinolonas pode ocasionar o aparecimento de bactérias produtoras de ESBL CTX-M (CHONG; ITO; KAMIMURA, 2011), e vice-versa. Tal situação restringe as possibilidades de tratamento antimicrobiano. Por esse motivo, na Europa só é autorizado o uso sistêmico de cefalosporinas para tratamento de casos humanos nos quais outros antimicrobianos têm pouco efeito (LIEBANA et al., 2013).

Segundo Oteo, Pérez-Vázquez e Campos (2010), apesar de não haver uma explicação exata para a maneira como *E. coli* produtoras de ESBL estão se disseminando pelo mundo, há alguns fatores identificados que podem explicar essa disseminação, como aquisição desses micro-organismos pela alimentação (VOETS et al., 2013; BARBOSA et al., 2014; EGERVÄRN et al., 2014; RASHEED et al. 2014), transporte por animais domésticos e selvagens (LEVERSTEIN-VAN HALL et al., 2011; HIROI et al., 2012), disseminação no ambiente (HAQUE et al., 2014), transmissão pessoa-a-pessoa a partir de portadores fecais (RODRÍGUEZ-BAÑO et al., 2008), existência de reservatórios em hospitais e esgotos (KORZENIEWSKA; HARNISZ, 2013; OJER-USOZ et al., 2014).

Alguns fatores de risco para aquisição de ESBL já foram identificados, quais sejam: consumo prévio e/ou recente de antibióticos, contato com centros de saúde (recente hospitalização, residência em institutos de longa permanência, cateterismo vesical), idade avançada, diabetes *mellitus* e infecção urinária recorrente (OTEO; PÉREZ-VÁZQUEZ; CAMPOS, 2010; LIEBANA et al., 2013).

Os principais riscos ligados à saúde pública motivados pela ocorrência de bactérias produtoras de ESBL, portanto, se devem à prevalência desses micro-organismos em animais de produção e produtos de origem animal; às características genéticas dos genes decodificadores de ESBL e à possibilidade de transmissão dessas bactérias de animais e alimentos para o homem (LIEBANA et al., 2013).

REFERÊNCIAS

ABREU, A. G.; GONÇALVES, A. G. Resistência bacteriana e a produção de beta-lactamases de espectro ampliado (ESBLs). **Revista de Ciências da Saúde**. v. 12, n. 1, p. 57-66, jan-jun, 2010.

ADENIPEKUN, E.O., JACKSON, C.R., OLUWADUN, A., IWALOKUN, B.A., FRYE, J.G., BARRETT, J.B., HIOTT, L.M.; WOODLEY, T. Prevalence and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from food animals in Lagos, Nigeria. **Microbial Drug Resistance**, v. 21, n. 3, p. 358-365, 2015.

ALLEN, H. K. Antibiotic resistance gene discovery in food-producing animals. **Current Opinion in Microbiology**, v.19, p. 25-29, 2014.

ALVES, R. P. R. **Estudo** das principais enterobactérias responsáveis pelas infecções no âmbito hospitalar e comunitário: uma revisão. Campina Grande: UEPB, 2011. 30f.

ARIAS, M.V.B.; CARRILHO, C.M.D.M. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? **Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 775-790, abr. 2012.

BADA-ALAMBEDJI, R.; FOFANA, A.; SEYDI, M.; AKAKPO, A.. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from poultry carcasses in Dakar (Senegal). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 510-515, 2006

BARBOSA, M. M. C.; PINTO, F. R.; RIBEIRO, L. F.; GURIZ, C. S. L.; FERRAUDO, A. S.; MALUTA, R. P.; RIGOBELLO, E. C.; ÁVILA, F. A.; AMARAL, L. A. Serology and patterns of antimicrobial susceptibility in *Escherichia coli* isolates from pay-to-fish ponds. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 81, n.1, p. 43-48, 2014.

BARRETO, N.S.E.; SANTOS, G.C.F.; CREPALDI, A.L.; SANTOS, R.A.R. Qualidade microbiológica e suscetibilidade antimicrobiana do leite *in natura* comercializado em Cruz das Almas, Bahia. **Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2315-2326, nov./dez. 2012

BII, C.C.; TAGUCHI, H.; OUKO, T.T.; MUITA, L.W.; WAMAE, N.; KAMIYA, S. Detection of virulence-related genes by multiplex PCR in multidrug-resistance diarrhoeagenic *Escherichia coli* isolates from Kenia and Japan. **Epidemiology and Infection.**, v.133, n. 4, p. 627-633, 2005.

BRADFORD, P. A. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 4, p. 933-951, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças Transmitidas por Alimentos. 2015. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/outubro/19/Apresenta----o-dados-gerais-DTA-2015.pdf>> Acesso em 05 nov. 2015.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa Nº 42, de 20 de dezembro de 1999.** Altera o Plano Nacional do Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal – PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel - PCRM, Leite - PCRL e Pescado – PCRP. Diário Oficial da União de 22/12/1999, seção 1, p. 213.

CANIZALEZ-ROMAN, A.; GONZALEZ-NUÑES, E.; VIDAL, J.E.; FLORES-VILLASEÑOR, H.; LÉON-SICAIROS, N. Prevalence and antibiotic resistance profiles of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from items in northwestern Mexico. **International Journal of Food Microbiology**, v. 164, p. 36-45, 2013.

CARRIJO, K.F.; CUNHA, F.L.; NEVES, M.S.; FERREIRA, P.N.S.; NUNES, E.S.C.L.; FRANCO, R.M.; MILHOMEM, R.; NOBRE, F.S.D. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de ricotas frescas comercializadas no município de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. **Veterinária Notícias**, v. 17, n. 2, p. 97-110, 2011.

CHONG, Y.; ITO, Y.; KAMIMURA, T. Genetic evolution and clinical impact in extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 11, p. 1499-1504, 2011.

DE MELO, L.V.; MIGUEL, D.P. Qualidade microbiológica de queijos Minas frescal e queijos Minas padrão comercializados na cidade de Uberaba-MG. **Cadernos de Pós-Graduação da FAZU**, v. 2, 2011.

DEPOORTER, P.; PERSONS, D.; UYTENDAELE, M.; BUTAYE, DE ZUTTER, L.; HERMAN, L.; IMBERECHTS, H.; VAN HUFFEL, X.; DEWULF, J. Assessment of human exposure to 3rd generation cephalosporin resistant *E. coli* (CREC) through consumption of broiler meat in Belgium. **International Journal of Food Microbiology**, v. 159, p. 30-38, 2012.

EGERVÄRN, M.; BÖRJESSON, S.; BYFORS, S.; FINN, M.; KAIPE, C.; ENGLUND, S.; LINDBLAD, M. *Escherichia coli* with extended-spectrum beta-lactamases or transferable AmpC beta-lactamases and *Salmonella* on meat imported into Sweden. **International Journal of Food Microbiology**, v.171, p. 8-14, 2014.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo, SP: Atheneu, c2008. 182 p.

GARCÍA-ALVAREZ, L.; DAWSON, S.; COOKSON, B.; HAWKEY, P. Working across the veterinary and human health sectors. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, suppl. 1, p. i37-i49, 2012.

GOMES, T.A.T.; TRABULSI, L.R. *Escherichia coli* Enteropatogênica (EPEC). In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2008. p. 281-287.

GUTH B.E.C. *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC). In: In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2008a. p. 289-293.

GUTH, B. E. C. *Escherichia coli* Enterotoxigênica (ETEC). In: In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2008b. p. 301-305.

HAQUE, A.; YOSHIKUMI, A.; SAGA, T.; ISHII, Y.; TATEDA, K. ESBL-producing Enterobacteriaceae in environmental water in Dhaka, Bangladesh. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 20, n. 11, p. 735-737, 2014.

HARADA, K.; ASAI, T.; KOJIMA, A.; ISHIHARA, K.; TAKAHASHI, T. Role of coresistance in the development of resistance to chloramphenicol in *Escherichia coli* isolated from sick cattle and pigs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 2, p. 230-235, fev. 2006

HEMMATINEZHAD, B.; KHAMESIPOUR, F.; MOHAMMAD, M.; DEHKORDI, F.S.; MASHAK, Z. Microbiological investigation of O-serogroups, virulence factors and antimicrobial resistance properties of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from Ostrich, Turkey and Quail Meats. **Journal of Food Safety**, v. 35, p. 491-500, 2015.

HIROI, M.; MATSUI, S.; KUBO, R.; IIDA, N.; NODA, Y.; KANDA, T.; SUGIYAMA, K.; HARA-KUDO, Y.; OHASHI, N. Factors for occurrence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 74, n. 12, p. 1635-1637, 2012.

KAPER, J.B.; NATARO, J.P.; MOBLEY, H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews. Microbiology**, v.2, p. 123-140, fev. 2004.

KASNOWSKI, M.C. *Listeria spp., Escherichia coli: Isolamento, identificação, estudo sorológico e antimicrobiano em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída*. Niterói: UFF, 2004. Disponível em:
<http://www.uff.br/higiene_veterinaria/teses/maria_kasnowski_completa_mestrado.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2013.

KONEMAN, Elmer W. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2008. 1565 p.

KORZENIEWSKA, E.; HARNISZ, M. Beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospital effluents. **Journal of Environmental Management**, v.123, p. 1-7, 2013.

LEVERSTEIN-VAN HALL, M. A.; DIERIKX, C.M.; STUART, J.C.; VOETS, G.M.; VAN DEN MUNCKHOF, M.P.; VAN ESSEN-ZANDBERGEN, A.; PLATTEEL, T.; FLUIT, A.C.; VAN DE SANDE-BRUIJNSMA, N.; SCHARINGA, J.; BONTEN, M.J.M.; MEVIUS, D.J.. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 6, p. 873-880, Jun 2011.

LIEBANA, E.; CARATTOLI, A.; COQUE, T.M.; HASMAN, H.; MAGIORAKOS, AP.; MEVIUS, D.; PEIXE, L.; POIREL, L.; SCHUEPBACH-REGULA, G.; TORNEKE, K.; TORREN-EDO, J.; TORRES, C.; THRELFALL, J. Public health risks of enterobacterial isolates producing extended-spectrum β -lactamases or Ampc β -lactamases in food and food-producing animals: an EU perspective of epidemiology, analytical methods, risk factors, and control options. **Clinical Infectious Diseases**, v. 56, n. 7, p. 1030-1037, 2013.

MANTILLA, S.P.S.; FRANCO, R.M. Perfil de sensibilidade microbiana *in vitro* de linhagens patogênicas de *Escherichia coli* isoladas de carne bovina. **Colloquium Agrariae**, v. 8, n. 1, p.10-17, jan./jun. 2012

MARSHALL, B.M.; LVY, S.B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. **Clinical Microbiology Review**, v. 24, n. 4, p. 718-733, out. 2011.

MARTINEZ, J.L. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 276, n. 1667, p. 2521-2530, 2009.

MOTA, R.A.; SILVA, K.P.C.; FREITAS, M.F.L. PORTO, W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.42, n.6, p.465-470, 2005

OJER-USOZ, E., GONZÁLEZ, D., GARCÍA-JALÓN, I.; VITAS, A.I. High dissemination of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in effluents from wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 56, p. 37-47, 2014.

OMS. 2012. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44812/1/9789241503181_eng.pdf> Acesso em: 22 jan. 2016

_____. 2011. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. FactSheet nº 125. 2011. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/>> Acesso em 03 jan. 2014

_____. 2001. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Disponível em: http://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf Acesso em 22 jan. 2016

OTEO, J.; PÉREZ-VAZQUEZ, M.; CAMPOS, J. Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 23, p. 320-326, 2010.

PAPHITOU, N. I. Antimicrobial resistance: action to combat the rising microbial challenges. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 42S, p. S25-S28, 2013.

PHILIPPON, A.; LABIA, R.; JACOBY, G. Extended-Spectrum β -lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 33, n. 8, p. 1131-1136, 1989.

PHILLIPS, I.; CASEWELL, M.; COX, T.; DE GROOT, B.; FRIIS, C.; JONES, R.; NIGHTINGALE, C.; PRESTON, R.; WADDELL, J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, p. 28-52, 2004.

PINA, E. C. S.. **Estudo da suscetibilidade a antibióticos de enterobactérias isoladas nos Hospitais da Universidade de Coimbra :detecção laboratorial de β -lactamases**. FFUC, 2012. Disponível em: <<https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/22414>> Acesso em: 16 jan. 2014

PISSETTI, C. **Ocorrência de *Salmonella enterica*, *L. monocytogenes* e frequência de isolados de *E. coli* resistentes a antimicrobianos em fezes e carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2012. 91f.

PITOUT, J.D.D.; LAUPLAND, K.B. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. **Lancet Infectious Disease**, v. 8, p. 159-166, 2008.

RASHEED, M. U.; THAJUDDIN, N.; AHAMED, P.; TEKLEMARIA, Z.; JAMIL, K. Antimicrobial drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated of food sources. **Rev. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 4, p. 341-346, 2014.

RIGOS, G.; BITCHAVA, K.; NENGAS, I. Antibacterial drugs in products originating from aquaculture: assessing the risks to public welfare. **Mediterranean Marine Science**, v. 11. n. 1, p. 33-41, 2010.

RODRÍGUEZ-BAÑO, J.; LÓPEZ-CERERO, L.; NAVARRO, M.D.; DE ALBA, P.D.; PASCUAL, A. Faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*: prevalence, risk factors and molecular epidemiology. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, p. 1142-1149, 2008.

ROSSI, E.M.; ZILLI, D.; SCAPIN, D.; ROZA-GOMES, M.F.; GELINSKI, J.M.L.N. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados em

supermercados da região extremo-oeste de Santa Catarina, Brasil. **Evidência**, v. 10, n. 1-2, p. 105-114, 2010.

SÁENZ, Y.; ZARAZAGA, M.; BRIÑAS, L.; LANTERO, M.; RUIZ-LARREA, F.; TORRES, C. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 18, p. 353-358, 2001.

SCHROEDER, C.M.; ZHAO, C.; DEBROY, C.; TORCOLINI, J.; ZHAO, S.; WHITE, D. G.; WAGNER, D.D.; McDERMOTT, P. F.; WALKER, R.D; MENG, J. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine and food. **Journal of Applied Environmental Microbiology**, v. 68, n. 2, p. 576, 2002.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; AHMED, S.; HAMEED, A. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended-spectrum β -lactamases. **Research in microbiology**, v. 155, p. 409-421, 2004.

SHAH, M.S.; EPPINGER, M.; AHMED, S.; SHAH, A.A.; HAMEED, A.; HASAN, F. Multidrug-resistance diarrheagenic *E. coli* pathotypes are associated with ready-to-eat salad and vegetables in Pakistan. **Journal of Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 267-273, 2015.

SILVA, K. C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, n. 2, p. 91-99, 2012.

SILVA, Z. N.; CUNHA, A.S.; LINS, M.C.; CARNEIRO, L.A.M.; ALMEIDA, A.C.F.; QUEIROZ, M.L.P. Isolation and serological identification of enteropathogenic *Escherichia coli* in pasteurized milk in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 4, p. 375-379, 2001.

SKOČKOVÁ, A.; KOLÁČKOVÁ, I.; BOGDANOVICOVA, K.; KARPÍŠKOVÁ, R. Characteristic and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from retail meats purchased in the Czech Republic. **Food Control**, 47, pp. 401-406, 2015a.

SKOČKOVÁ, A.; KARPÍŠKOVÁ, R.; KOLÁČKOVÁ, I.; CUPÁKOVÁ, S. Characteristics of *Escherichia coli* from raw vegetables at a retail Market in the Czech Republic. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, p. 196-201, 2013.

SOUSA, R. V.; SILVA, V. O. Implicações do uso de aditivos na alimentação animal: Resíduos e barreiras às exportações. In: V Congresso Nordestino de Produção Animal, 2008, Aracaju. Anais do V Congresso Nordestino de Produção Animal, 2008. v. 1. p. 1-6.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2008. 718 p.

TROTT, D. β -lactam resistance in Gram-negative pathogens isolated from animals. **Current Pharmaceutical Design**, v. 19, p. 239-249, 2013.

VAN T.T.H.; CHIN, J.; CHAPMAN, T.; TRAN, L.T.; COLOE, P.T. Safety of raw meat and a shellfish in Vietnam: An analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotics resistance and virulence genes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 124, p. 217-233, 2008.

VOETS, G.M.; FLUIT, A.C.; SCHARRINGA, J.; SCHAPENDONK, C.; van dan MUNCKHOF, T.; LEVERSTEIN-VAN HALL, M.A.; STUART, J.C. Identical plasmid AmpC beta-lactamase genes and plasmid types in *E. coli* from patients and poultry meat in the Netherlands. **International Journal of Food Microbiology**, 167, p. 359-362, 2013.

WEIGLMEIER, P.R.; RÖSCH, BERKNER, H. Cure and Curse: *E. coli* heat-stable enterotoxin and its receptor guanylyl cyclase c. **Toxins**, v.2, p. 2213-2229, 2010

CAPÍTULO II

PRESENÇA DE *Escherichia coli* PRODUTORA DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ALIMENTOS: ESTUDO PROSPECTIVO

Quem busca o conhecimento e o acha obterá dois prêmios: um por procurá-lo, e outro por achá-lo. Se não o encontrar, ainda restará o primeiro prêmio.

Maomé

PRESENÇA DE *Escherichia coli* PRODUTORA DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ALIMENTOS: ESTUDO PROSPECTIVO

Leite, Aline B.^{1*}; Guimarães, A. G.¹

¹Universidade Federal da Bahia – UFBA – Salvador/BA – Brasil

*alineleite@veterinaria.med.br

RESUMO

E. coli é um dos micro-organismos mais frequentemente envolvidos em surtos de doenças veiculadas por alimentos no Brasil, e um de seus principais mecanismos de resistência antimicrobiana é a produção da enzima beta-lactamase de espectro estendido (ESBL). Estudos demonstraram que essa enzima está cada vez mais presente no ambiente hospitalar e que o trato gastrointestinal de pacientes e animais podem ser importantes reservatórios de bactérias produtoras de ESBL. No Brasil, no entanto, pouco se publicou sobre o possível papel da cadeia alimentar na transferência desses genes para a microbiota residente do homem. Esse artigo objetiva realizar uma prospecção dos trabalhos científicos já publicados a respeito da presença de *E. coli* produtora de ESBL em alimentos, a fim de discutir o potencial e o desenvolvimento dos estudos sobre a transmissão desses genes de resistência por meio da cadeia alimentar.

Palavras-chave: *E. coli*, ESBL, beta-lactamases, alimentos

ABSTRACT

E. coli is one of the micro-organisms most frequently involved in foodborne disease outbreaks in Brazil, and the production of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) is one of its main antimicrobial resistance mechanisms. Studies have shown that this enzyme is increasingly present in the hospitals and that the gastro-intestinal tract of patients and animals can be important reservoirs of ESBL-producing bacteria. However, few papers were published in Brazil about the possible role of the food chain in the transfer of these genes to the human resident microbiota. This article aims to conduct a survey of scientific papers published about the presence of ESBL-producing *E. coli* in foods to discuss the potential and the development of studies on the transmission of these resistance genes through the food chain.

Key words: *E. coli*, ESBL, beta-lactamases, food

Área Tecnológica: Ciência de Alimentos

1 INTRODUÇÃO

Segurança alimentar é um componente crítico e fundamental da saúde pública, dado o grande número de ocorrências de doenças envolvendo alimentos contaminados e o ônus acarretado tanto para os cofres públicos quanto para a própria sociedade. Por isso é necessário fortalecer os sistemas de vigilância de forma a permitir uma detecção, gestão e prevenção antecipadas da propagação de doenças de origem alimentar (NEWELL et al., 2010).

Uma das bactérias mais frequentes em surtos alimentares no Brasil, segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2015), atrás apenas de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*, é a *Escherichia coli*. Trata-se de uma bactéria comumente encontrada no intestino de humanos e mamíferos, sendo que a maioria dos isolados é saprófita e inofensiva, porém algumas – como a *E. coli* O157:H7 – podem causar severas doenças de origem alimentar, incluindo Síndrome Urêmica Hemolítica (do inglês, HUS), especialmente em crianças e idosos (OMS, 2011).

Mudanças na população microbiana podem levar à evolução de novos micro-organismos patogênicos e ao desenvolvimento de novos fatores de virulência em patógenos antigos (MELLMANN; BIELASZEWSKA; KARCH, 2009). Assim emerge a resistência antimicrobiana, um problema global de saúde pública, que é impactado e provocado pelo uso de antimicrobianos tanto em humanos quanto na medicina veterinária (ARIAS; CARRILHO, 2012; GONZALES, MELLO; CAFÉ, 2012).

Os antimicrobianos são utilizados há décadas na produção animal tanto no tratamento como na promoção de crescimento dos animais, o que ajudou a aumentar a sua eficiência alimentar e conseqüente produtividade. Porém, com o seu uso contínuo, resíduos dessas substâncias podem permanecer nos alimentos de origem animal. Ao ingeri-los, fenômenos alérgicos podem ser desencadeados; o equilíbrio do trato intestinal dos consumidores pode ser alterado; além de genes de resistência antimicrobiana poderem ser selecionados e transferidos à microbiota residente dos humanos, o que dificultaria o tratamento de diversos tipos de doenças (ARIAS; CARRILHO, 2012; BARRETO et al., 2012).

Os beta-lactâmicos são os antimicrobianos mais usados no tratamento de infecções bacterianas enquanto as beta-lactamases continuam sendo o principal mecanismo de resistência das bactérias Gram-negativas a esse grupo de antimicrobianos. Com isso, novos medicamentos foram sendo desenvolvidos, e a pressão seletiva exercida por estes propiciou a seleção de isolados cujos genes codificadores das beta-lactamases clássicas sofreram pequenas mutações, que permitiram amplificar seu espectro de inativação. Por isso que a produção de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) por enterobactérias representa um grande problema na medicina. Elas conferem resistência às penicilinas, todas as cefalosporinas e aos monobactâmicos. Dentre os micro-organismos com maior produção de ESBL em todo o mundo destacam-se *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli* (ABREU; GONÇALVES, 2010).

A literatura demonstra muitos casos nos quais hospitais têm notado rápido aumento no número de micro-organismos carreando ESBL, além de disseminação intra- e inter-hospitalar. A transmissão pelas mãos dos profissionais é relevante, sendo o trato gastrointestinal dos pacientes um importante reservatório (ABREU; GONÇALVES, 2010). Por isso, é mister investigar a participação da ingestão de alimentos nesse processo de aquisição de resistência por ESBL pelas bactérias da microbiota residente do homem, as quais

eventualmente são encontradas como contaminantes dos mais diversos tipos de produtos alimentares, principalmente porque ainda são poucos os registros nesse sentido (LEVERSTEIN-VAN HALL et al., 2011; VOETS et al., 2013; BAGHERI; GHANBARPOUR; ALIZADE, 2014; EGERVARN et al., 2014; VELDMAN et al., 2014).

Assim, esse artigo objetiva realizar uma prospecção dos trabalhos científicos já publicados a respeito da presença de *E. coli* produtora de ESBL em alimentos, a fim de discutir o potencial e o desenvolvimento dos estudos sobre a transmissão desses genes de resistência por meio da cadeia alimentar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma prospecção de artigos científicos cujo tema seja a pesquisa de *E. coli* produtora de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) em alimentos. Para isso, *a priori*, foram utilizadas as plataformas *Web of Science*, *ScienceDirect*, *Scopus* e *Scielo*, por serem as mais difundidas entre os pesquisadores brasileiros nas áreas de saúde e ciência de alimentos, a fim de identificar a plataforma que abriga mais artigos no tema em questão. As palavras-chave utilizadas, combinadas de diversas formas (Quadro 1), foram: *E. coli*, beta-lactamase, ESBL, *food*, *food of animal origin* e *product of animal origin*. Limitou-se os tipos de documentos em *Articles or Reviews*, e o espaço temporal entre 2005 e 2015. Vale salientar que os escopos foram preparados em dezembro de 2015.

Quadro 1 – Escopo das pesquisas realizadas nas plataformas *Web of Science*, *ScienceDirect*, *Scopus* e *Scielo* quanto à presença de *E. coli* produtora de ESBL em alimentos.

Pesquisa	Palavras-chave						Plataformas			
	<i>E. coli</i>	Beta-lactamase	ESBL	<i>Food</i>	<i>Food of animal origin</i>	<i>Product of animal origin</i>	<i>Web of Science</i>	<i>Science Direct</i>	<i>Scopus</i>	<i>Scielo</i>
1	X						119.501	159.437	66.344	930
2		X					18.695	11.592	13.894	92
3	X			X			13.806	39.666	5.953	12
4			X				6.500	4.894	4.474	137
5	X	X					2.801	6.514	3.015	12
6	X		X				1.873	3.692	1.941	46
7	X	X	X				1.518	2.609	1.754	11
8	X	X		X			263	1.294	187	10
9			X	X			291	998	218	5
10	X		X	X			183	771	124	3
11	X	X	X	X			153	695	111	0
12	X				X		246	253	34	1
13			X		X		38	48	4	0
14	X		X		X		28	43	2	0
15	X	X			X		41	46	2	0
16	X	X	X		X		25	33	2	0
17			X			X	15	10	1	0
18	X					X	145	67	4	0
19	X		X			X	11	10	0	0

20	X	X				X	11	14	0	0
21	X	X	X			X	8	10	0	0

Fonte: Autoria própria

As palavras-chave foram buscadas da seguinte maneira:

- “palavra-chave 1”
- “palavra-chave 1” AND “palavra-chave 2”
- “palavra-chave 1” AND “palavra-chave 2” AND “palavra-chave 3”
- “palavra-chave 1” AND “palavra-chave 2” AND “palavra-chave 3” AND “palavra-chave 4”

Em cada escopo foi identificada a combinação de palavras-chave que mais se aproximava do objetivo da pesquisa, e cuja quantidade de resultados se aproximasse o máximo possível de 100, para que fosse viável analisar os dados. Assim, foram utilizados esses dois critérios: 1- resultados mais relevantes na combinação de palavras-chave e 2- resultados mais próximos de 100. Essas combinações encontram-se destacadas no Quadro 1. Podemos observar que a pesquisa 2, apesar de atender o critério 2, com 92 resultados, não atende o critério 1, pois apresentou resultados que não incluíam termos relevantes para a prospecção como *E. coli*, alimentos ou ESBL. Na pesquisa 11, mesmo incluindo a palavra-chave ESBL – o que deveria restringir –, a palavra-chave beta-lactamase abriu o leque de busca, apresentando artigos sobre outras beta-lactamases além da ESBL, o que foge do objetivo. A pesquisa 10, portanto, apesar de não ser a mais próxima de 100, foi a que melhor atendeu a esses dois critérios propostos, mesmo sem restringir o tipo de alimento (de origem animal), atendendo, portanto, à proposição de estudar a presença de *E. coli* produtora de ESBL em alimentos. Dessa forma, a plataforma que atendeu melhor aos dois critérios foi a *Scopus*. Por isso, os resultados a seguir apresentados referem-se aos 124 resultados obtidos com a pesquisa das palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food* na plataforma *Scopus*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando o Quadro 1 acima, pode-se observar que as pesquisas que geraram maior número de resultados foram *E. coli*, beta-lactamase e *E. coli* em alimentos. Esses temas, porém, são muito abrangentes e não refletem o estudo proposto. Ainda deste quadro, extrai-se a informação de que a plataforma *Scielo* é a que apresenta menor número de resultados, em todas as pesquisadas realizadas, provavelmente por se tratar de indexação regionalizada (América Latina e África do Sul).

Pode-se observar que os resultados mais próximos de 100 são da plataforma *Scielo* (92), após pesquisa de beta-lactamase; da *Scopus* (111), ao buscar por ESBL, *E.coli*, beta-lactamase e *food*; e novamente *Scopus* (124), ao se pesquisar ESBL, *E. coli* e *food*.

A terceira combinação, conforme explicado em Material e Métodos, apesar de ultrapassar levemente os 100 artigos propostos e de não restringir o tipo de alimento (de origem animal), atende à proposição de estudar a presença de *E. coli* produtora de ESBL em alimentos, motivo pelo qual foi selecionada para realizar o estudo prospectivo.

Analisando, portanto, os 124 artigos indexados na plataforma *Scopus*, percebe-se que publicações a respeito de *E. coli* produtoras de ESBL em alimentos vem aumentando nos últimos 10 anos, o que revela a importância e visibilidade do tema. Podemos observar no gráfico 1 que, em 2005, foi publicado 1 (um) artigo na plataforma *Scopus* envolvendo essas palavras-chave. Já em 2015, foram cerca de 30. Esse aumento pode estar associado ao interesse cada vez maior em bactérias super-resistentes, pois esse é um assunto de grande relevância e preocupação para a saúde pública (OMS, 2001, 2012).

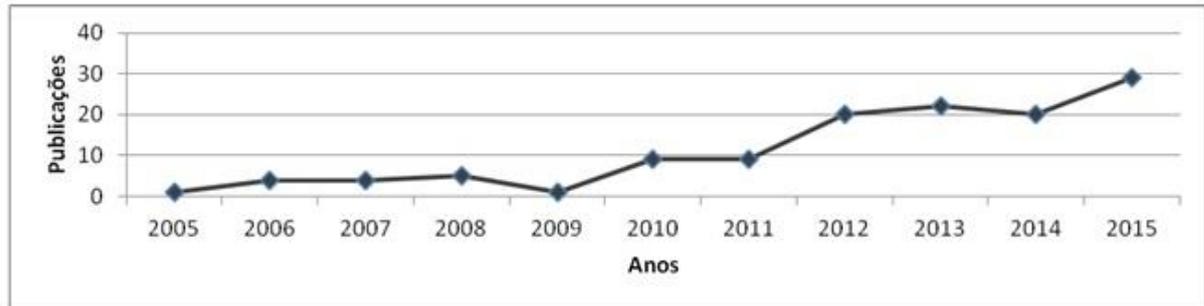


Gráfico 1 – Distribuição por ano dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food*.

Os principais países de origem das publicações disponíveis na plataforma *Scopus* a respeito desse tema na última década foram Espanha, Holanda e China (gráfico 2). Esse interesse pode ser explicado tanto regionalmente como globalmente. A China é um dos maiores importadores e exportadores do mundo, inclusive de alimentos, o que implica em grande necessidade de monitorar a qualidade e os riscos referentes à transmissão de micro-organismos e genes de resistência pelos produtos que entram e saem do país (OMC, 2015). A Holanda, assim como Noruega e Dinamarca, regula pesadamente o mercado de alimentos e uso de antibióticos médicos e produtos agrícolas. A nova estirpe de bactéria MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina) multirresistente foi encontrada pela primeira vez na Holanda em 2003, sendo responsável por quase metade dos casos de infecções por MRSA em humanos nesse país (TAVERNISE, 2013). Já a Espanha foi acusada no ano de 2011 por um grande surto envolvendo 13 nações europeias, totalizando 2153 doentes e 125 mortes, das quais 22 foram na Alemanha. A variante de *E. coli* envolvida nesse surto foi identificada como O104. Todos esses eventos envolvendo bactérias super-resistentes coincidem com o aumento de publicações sobre *E. coli* produtora de ESBL a partir de 2005, e mais vastamente a partir de 2010 nesses países e no mundo. Apesar da importância e visibilidade do tema proposto, somente quatro artigos relatando pesquisas no Brasil foram identificados na plataforma *Scopus*, e todos analisaram somente frangos ou carne de frango, provavelmente por ser o Brasil o líder mundial de exportações desse produto e pelo fato desses animais serem geralmente manejados em confinamento, o que aumenta o risco de ocorrência de doenças infecciosas entre os animais (FERREIRA et al., 2014a; FERREIRA et al., 2014b; BOTELHO et al., 2015; KOGA et al., 2015).

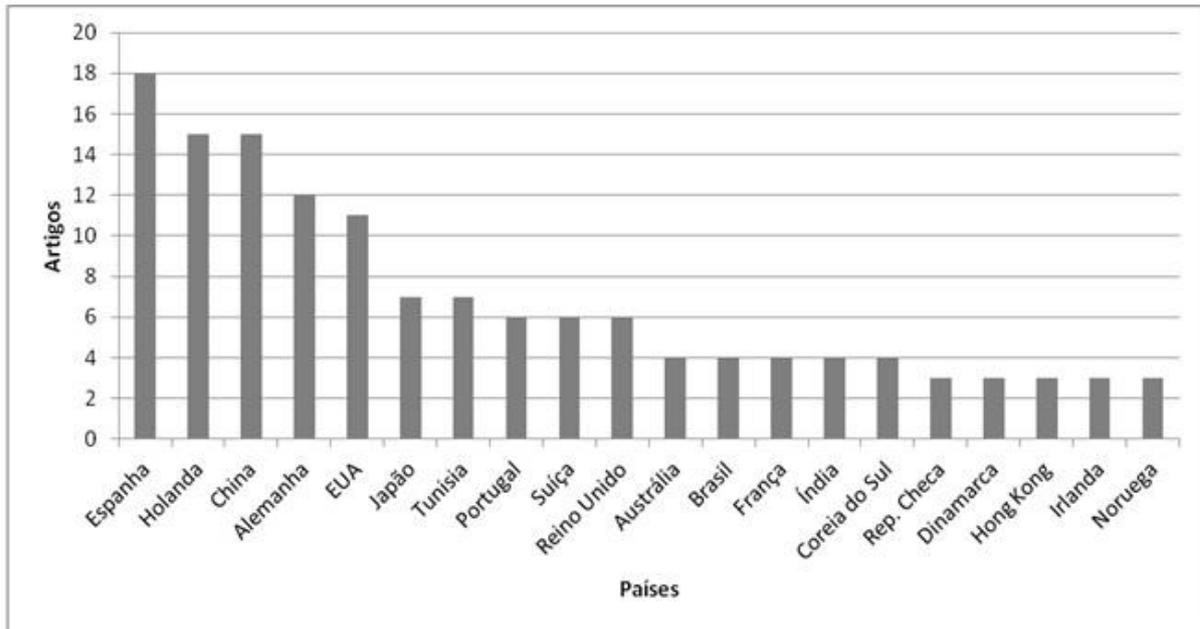


Gráfico 2 – Distribuição dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESB, *E. coli* e *food* dentre os 20 principais países.

No gráfico 3, observa-se a distribuição dos artigos entre as instituições de ensino, que corrobora com a distribuição por países, não necessariamente na mesma ordem. O *National Institute of Public Health and Environment*, de Biltoven, Holanda, aparece em primeiro lugar, com oito publicações. Este órgão tem a função de monitorar tudo que seja relacionado à resistência antimicrobiana no país, incluindo a ocorrência de infecções por bactérias resistentes na população, e de aconselhar o Ministro da Saúde, Bem-estar e Esporte da Holanda. As bactérias resistentes mais frequentes na Holanda, bem como na Europa, e sobre as quais estes países mantêm o foco primário são MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina), VRE (Enterococos resistentes a vancomicina), bactérias produtoras de ESB e bactérias resistentes a carbapenem. O fato de as bactérias produtoras de ESB serem um dos principais micro-organismos de monitoramento desta instituição explica a sua primeira colocação no gráfico. Já a *Universidad de La Rioja*, em Logroño, Espanha, segunda colocada, é a instituição de origem do autor que mais publicou sobre o tema entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus*.

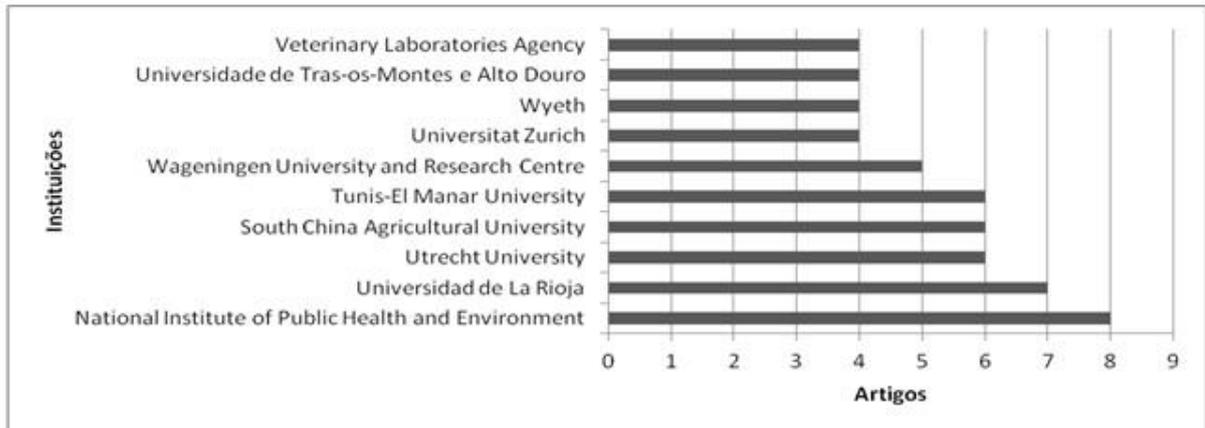


Gráfico 3 – Distribuição dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food* entre as dez principais instituições.

O gráfico 4 mostra os dez principais autores que publicaram sobre *E. coli* produtora de ESBL em alimentos. Observa-se que os mesmos são dos países e/ou instituições que mais publicaram sobre o tema, o que confirma a solidez e poder dos dados levantados. Torres, Carmen, a primeira colocada, pertence à Área de Bioquímica e Biologia Molecular da *Universidad de La Rioja*, na Espanha, a segunda instituição e o primeiro país que mais publicaram sobre o tema. Torres teve participação em sete dos sete artigos publicados pela instituição no período e plataforma estudados. Em seis deles, foi último autor, posição geralmente ocupada pelo coordenador do projeto. Dos sete trabalhos, dois analisaram amostras de Portugal e cinco, da Tunísia. Foram estudadas *E. coli* (seis artigos) e Enterobacteriaceae (um artigo) produtoras de ESBL, oriundas de diferentes matrizes (animais, alimentos, solo e água).

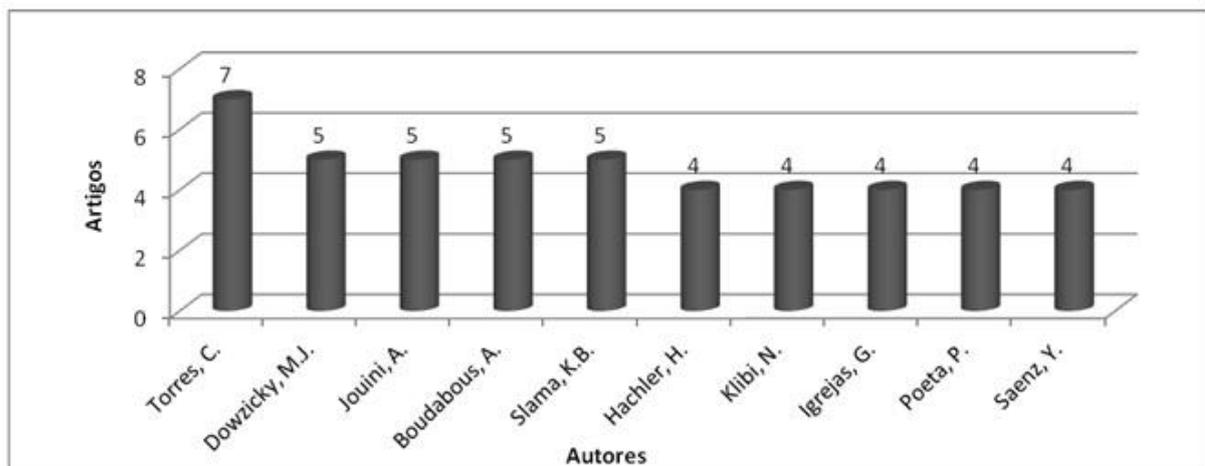


Gráfico 4 – Principais autores dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food*.

Os três periódicos indexados pela plataforma *Scopus* mais escolhidos para publicação do tema foram *International Journal of Food Microbiology*, *Foodborne Pathogens and Disease* and *Journal of Food Protection*. Tais revistas apresentam

classificação Qualis A2, B1 e B1, respectivamente, para a área de Ciência de Alimentos. Demais sete principais periódicos podem ser visualizados no gráfico 5.

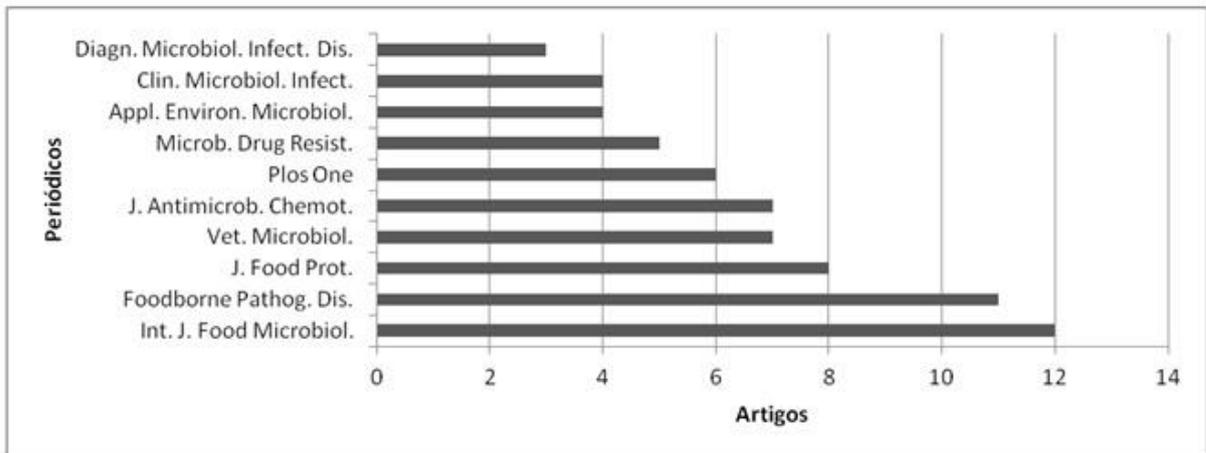


Gráfico 5 – Distribuição dos artigos publicados entre 2005 e 2015 na plataforma *Scopus* constando as palavras-chave ESBL, *E. coli* e *food* entre os dez principais periódicos.

Dentre os 124 resultados da pesquisa por ESBL, *E. coli* e *food* na plataforma *Scopus*, 11 foram considerados fora do escopo, por não abordarem sobre ESBL ou alimento ou, ao menos, sobre a cadeia produtiva dos alimentos de origem animal. Outros 15 se tratavam de revisões e não de artigos originais. Os 98 restantes, como pode ser verificado no gráfico 6, exploraram os seguintes tipos de amostra e suas combinações: produtos de origem animal (incluindo *swabs* de carcaça); outros tipos de alimentos; animais de produção (fezes, órgãos ou *swabs*); humanos (secreções, fezes ou outras excreções), fazenda (ambiente ou trabalhadores) e ambiental (água, esgoto ou ambiente de frigorífico).

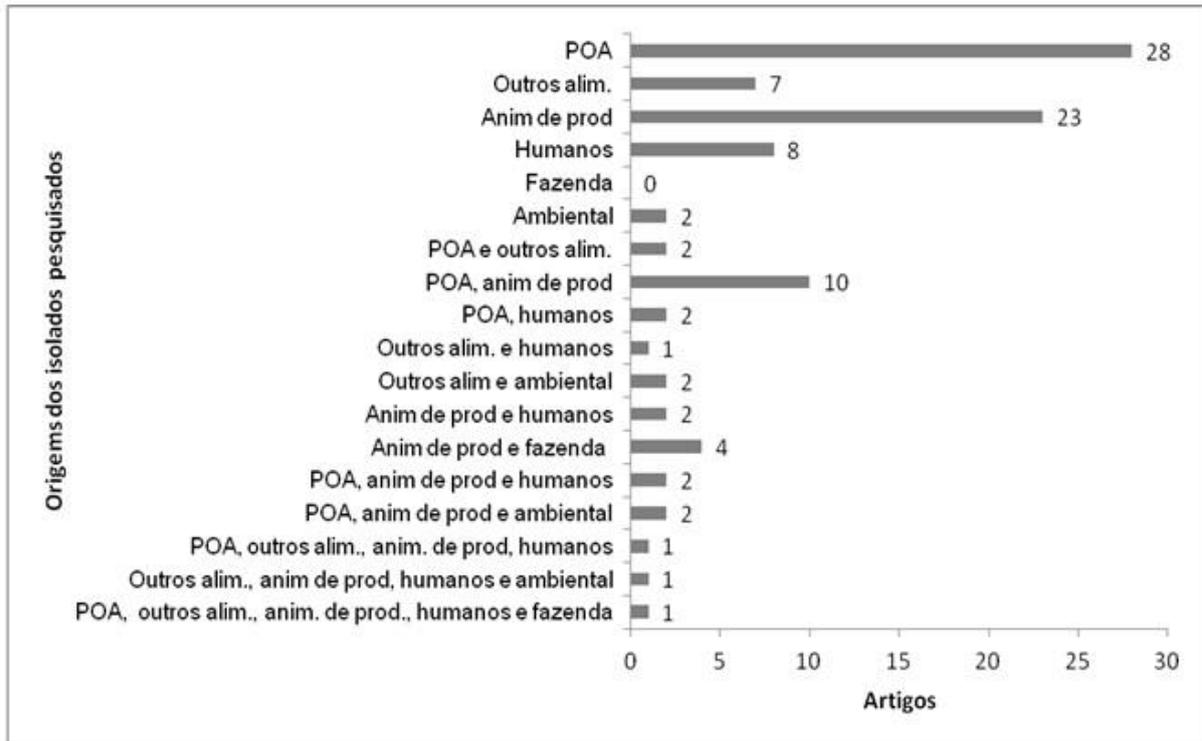


Gráfico 6 – Distribuição dos 98 artigos cujo tema abordado corresponde à pesquisa de ESBL, *E. coli* e *food* na plataforma *Scopus*, por origem dos isolados estudados. POA: produtos de origem animal; Outros alim.: outros alimentos; anim de prod: animais de produção.

O gráfico mostra que os tipos de amostra mais estudados têm sido produtos de origem animal e animais de produção. Porém, em sua maioria, os artigos costumam analisar apenas um tipo de produto ou uma única espécie animal, deixando espaço para um estudo comparativo da presença de *E. coli* produtora de ESBL entre diferentes produtos e/ou diferentes espécies, o que já foi feito em alguns países (BLANC et al., 2006; MACHADO et al., 2008; HORTON et al., 2011; GESER; STEPHAN; HÄCHLER, 2012; SALLEM et al., 2012; BARDON et al., 2013; TAMANG et al., 2013; PATTERNEL et al., 2014; RAO et al., 2014; RASHEED et al., 2014).

Outra informação a se extrair dos 98 artigos considerados dentro do escopo é que nem todos analisaram apenas *E. coli*, apesar da tentativa de restrição (Gráfico 7). Outros micro-organismos, como *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* e *Acinetobacter* também foram estudados (HALSTED; ABID; DOWZICKY, 2007; HIROI et al., 2012; SEIFFERT et al., 2013; SORAAS et al., 2013; EGERVARN et al., 2014; PATTERNEL et al., 2014; BENINATI et al., 2015; CLEMENTE et al., 2015).

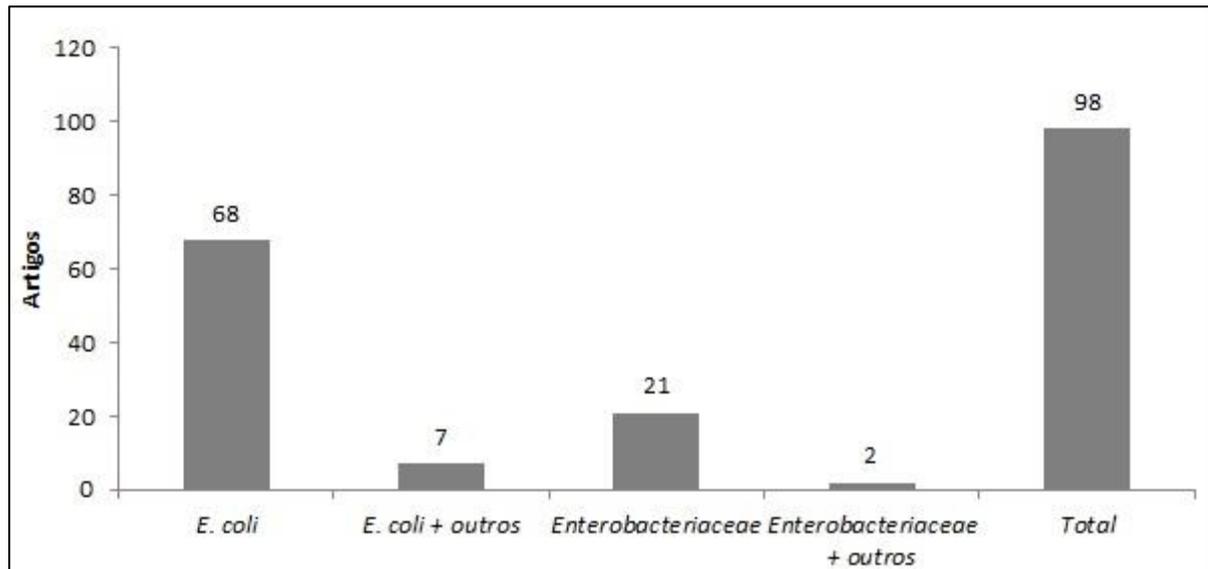


Gráfico 7 – Distribuição por micro-organismos dos 98 artigos cujo tema abordado corresponde à pesquisa de ESBL, *E. coli* e *food* na plataforma Scopus.

4 CONCLUSÃO

O tema resistência antimicrobiana é de interesse mundial, e a alimentação é uma das formas mais fáceis de disseminação de micro-organismos e de genes de resistência, devido à comercialização globalizada. Por isso, analisar as possíveis diferenças entre as espécies quanto à capacidade de produção de ESBL pode subsidiar a avaliação dos atuais métodos de produção animal, permitindo modificá-los ou adaptá-los com enfoque no uso mais racional dos antibióticos pelos profissionais da área, bem como a administração cautelosa desses medicamentos nos seres humanos, a fim de evitar pressão seletiva nos micro-organismos.

5 PERSPECTIVAS

A quantidade de estudos, no mundo, sobre o papel dos alimentos na transmissão de micro-organismos produtores de ESBL tem aumentado na última década. No entanto, ainda pouco se sabe a respeito desse tema no Brasil, em parte pela não popularização das técnicas da biologia molecular, a exemplo do PCR, no monitoramento e rastreamento desses micro-organismos super-resistentes. Assim, mais dados científicos referentes a esses assuntos precisam ser publicados, sendo necessário identificar a prevalência das famílias dos genes de resistências. Isso é pré-requisito fundamental para subsidiar uma atualização de políticas públicas concernentes ao controle de resíduos e contaminantes em alimentos de origem animal e para colaborar com a promoção da qualidade do sistema de produção animal no Brasil.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. G.; GONÇALVES, A. G. Resistência bacteriana e a produção de beta-lactamases de espectro ampliado (ESBLs). **Revista de Ciências da Saúde**, v. 12, n. 1, p. 57-66, 2010.
- ARIAS, M. V. B.; CARRILHO, C. Antimicrobial resistance in animals and in human being. There is reason for concern? **Semina-Ciencias Agrarias**, v. 33, n. 2, p. 775-790, 2012
- BAGHERI, M.; GHANBARPOUR, R.; ALIZADE, H. Shiga toxin and Beta-lactamases genes in *Escherichia coli* phlotypes isolated from carcasses of broiler chickens slaughtered in Iran. **International Journal of Food Microbiology**, v. 177, p. 16-20, 2014.
- BARDON, J. Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases in slaughtered animals in the Czech Republic. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 10, p. 1773-1777, 2013.
- BARRETO, N.S.; SANTOS, G. C. F.; CREPALDI, A. L.; SANTOS, R A. L. Qualidade microbiológica e suscetibilidade antimicrobiana do leite *in natura* comercializado em Cruz das Almas, Bahia. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2315-2326, nov./dez. 2012.
- BENINATI, C.; REICH, F.; MUSCOLINO, D.; GIARRATANA, F.; PANEBIANCO, A.; KLEIN, G.; ATANASSOVA, V. ESBL-producing bacteria and MRSA isolated from poultry and turkey products imported from Italy. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 33, p. 97-102, 2015.
- BLANC, V.; MESA, R.; SACO, M.; LAVILLA, S.; PRATS, G.; MIRÓ, E.; NAVARRO, F.; CORTÉS, P.; LLAGOSTERA, M. ESBL- and plasmidic class C β -lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. **Veterinary Microbiology**, v. 118, n. 3-4, p. 299-304, 2006.
- BOTELHO, L.A.B.; KRAYCHETE, G.B.; E SILVA, J.L.C.; REGIS, D.V.V.; PICÃO, R.C. , MOREIRA, B.M.; BONELLI, R.R. Widespread distribution of CTX-M and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in *Escherichia coli* from Brazilian chicken meat. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 2, p. 249-254, 2015.
- BRASIL**. Ministério da Saúde. Doenças Transmitidas por Alimentos. 2015. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/outubro/19/Apresenta---o-dados-gerais-DTA-2015.pdf>> Acesso em 05 nov. 2015.
- CLEMENTE, L.; MANAGEIRO, V.; JONES-DIAS, D.; CORREIA, I.; THEMUDO, P.; ALBUQUERQUE, T.; GERALDES, M.; MATOS, F.; ALMENDRA, C.; FERREIRA, E.; CANIÇA, M. Antimicrobial susceptibility and oximino- β -lactam resistance mechanisms in

Salmonella enterica and *Escherichia coli* isolates from diferente animal sources. **Research in Microbiology**, v. 166, n. 7, p. 574-583, 2015.

EGERVÄRN, M.; BÖRJESSON, S.; BYFORS, S.; FINN, M.; KAIPE, C.; ENGLUND, S.; LINDBLAD, M. *Escherichia coli* with extended-spectrum beta-lactamases or transferable AmpC beta-lactamases and *Salmonella* on meat imported into Sweden. **International Journal of Food Microbiology**, v. 171, n. 3, p. 8-14, 2014.

FERREIRA, J.C.; PENHA FILHO, R.A.C.; ANDRADE, L.N.; BERCHIERI JUNIOR, A.; DARINI, A.L.C. IncII/ST113 and IncII/ST114 conjugative plasmids carrying blaCTX-M-8 in *Escherichia coli* isolated from poultry in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 80, n. 4, p. 304-306, 2014a.

_____; PENHA FILHO, R.A.C.; ANDRADE, L.N.; BERCHIERI JUNIOR, A.; DARINI, A.L.C. Detection of chromosomal blaCTX-M-2 in diverse *Escherichia coli* isolates from healthy broiler chickens. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 10, p. O623-O626, 2014b.

GESER, N.; STEPHAN, R.; HÄCHLER, H. Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae in food producing animals, minced meat and raw milk. **BMC Veterinary Research**, v. 8, n. 21, 2012.

GONZALES, E.; MELLO, H. H. D. C.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação animal. **Revista UFG**, v. Ano XIII, n. 13, p. 06, 2012.

HALSTED, D.C.; ABID, J.; DOWZICKY, M.J. Antimicrobial susceptibility among *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex and Enterobacteriaceae collected as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. **Journal of Infection**, v. 55, n. 1, p. 49-57, 2007.

HIROI, M.; YAMAZAKI, F.; HARADA, T.; TAKAHASHI, N.; IIDA, N.; NODA, Y.; YAGI, M.; NISHIO, T.; KANDA, T.; KAWAMORI, F.; SUGIYAMA, k.; MASUDA, T.; HARA-KUDO, Y.; OHASH, N. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in food-producing animals. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 74, n. 2, p. 189-195, 2012.

HORTON, R. A.; RANDALL, L. P.; SNARY, E. L.; COCKREM, H.; LOTZ, S.; WEARING, H.; DUNCAN, D.; RABIE, A.; MCLAREN, I.; WATSON, E.; LA RAGIONE, R. M.; COLDHAM, N. G. Fecal carriage and shedding density of CTX-M extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in cattle, chickens, and pigs: implications for environmental contamination and food production. **Applied and Enviromental Microbiology**, v. 77, n. 11, p. 3715-3719, 2011.

KOGA V.L.; RODRIGUES G.R.; SCANDORIEIRO S.; VESPERO E.C.; OBA A.; DE BRITO B.G.; DE BRITO K.C.T.; NAKAZATO G.; KOBAYASHI R.K.T. Evaluation of the antibiotic resistance and virulence of *Escherichia coli* strains isolated from chicken carcasses in 2007 and 2013 from Paraná, Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 12, n. 6, p. 479-485, 2015.

LEVERSTEIN-VAN HALL, M. A. et al. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 6, p. 873-880, Jun 2011.

MACHADO, E.; COQUE, T. M.; CANTÓN, R.; SOUSA, J. C.; PEIXE, L. Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae isolates recovered from chickens and swine in Portugal. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, n. 2, p. 296-302, 2008.

MELLMANN, A.; BIELASZEWSKA, M.; KARCH, H. Intrahost genome alterations in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. **Gastroenterology**, v. 136, n. 6, p. 1925-1938, May 2009.

NEWELL, D.G.; KOOPMANS, M.; VERHOEF, L.; DUIZER, E.; AIDARA-KANE, A.; SPRONG, H.; OPSTEEGH, M.; LANGELAAR, M.; THREFALL, J.; SCHEUTZ, F.; VAN DER GIESSEN, J.; KRUSE, H. Food-borne diseases - The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. S3-S15, 2010.

OMC. 2015. Organização Mundial do Comércio. Trade Profiles 2015. Disponível em: <https://www.wto.org/english/res_e/booksp_e/trade_profiles15_e.pdf> Acesso em 02 fev. 2016.

OMS. 2012. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44812/1/9789241503181_eng.pdf> Acesso em: 22 jan. 2016

_____. 2011. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. FactSheet nº 125. 2011. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/>> Acesso em 03 jan. 2014

_____. 2001. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. WHO Global strategy for containment of antimicrobial resistance. Disponível em: http://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf Acesso em 22 jan. 2016

PETTERNEL, C.; GALLER, H.; ZARFEL, G.; LUXNER, J.; HAAS, D.; GRISOLD, A. J.; REINTHALER, F. F.; FEIERL, G. Isolation and characterization of multidrug-resistant bacteria from minced meat in Austria. **Food Microbiology**, v. 44, n. p.41-46, 2014.

RAO, L.; LV, L.; ZENG, Z.; CHEN, S.; HE, D.; CHEN, X.; WU, C.; WANG, Y.; YANG, T.; WU, P.; LIU, Y.; LIU, J. Increasing prevalence of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in food animals and the diversity of CTX-M genotypes during 2003–2012. **Veterinary Microbiology**, v. 172, n. 3-4, p. 534-541, 2014.

RASHEED, H. U.; THAJUDDIN, N.; AHAMED, P.; TEKLEMARIAM, Z.; JAMIL, K. Antimicrobial drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated from food sources. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 4, 2014.

SALLEM, R. B.; SLAMA, K. B.; SÁENZ, Y.; ROJO-BEZARES, B.; ESTEPA, V.; JOUINI, A.; GHARSA, H.; KLIBI, N.; BOUDABOUS, A.; TORRES, C. Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)– and CMY-2–producing *Escherichia coli* isolates from healthy food-producing animals in Tunisia. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 9, n. 12, p. 1137-1142, 2012..

SEIFFERT, S. N.; HILTY, M.; PERRETEN, V.; ENDIMIANI, A. Extended-spectrum cephalosporin-resistant gram-negative organisms in livestock: An emerging problem for human health? **Drug Resistance Update**, v. 16, n 1-2, p. 22-45, fev-abr 2013.

SORAAS, A.; SUNDSFJORD, A.; SANDVEN, I.; BRUNBORG, C.; JENUM, P.A. Risk factors for community-acquired urinary tract infections caused by ESBL- producing Enterobacteriaceae – A case-control study in a low prevalence country. **Plos One**, v. 8, n.7, p. e69581, 2013.

TAMANG, M. D.; NAM, H.; KIM, S.; CHAE, M. H.; JANG, G.; JUNG, S.; LIM, S. Prevalence and molecular characterization of CTX-M β -lactamase–producing *Escherichia coli* isolated from healthy swine and cattle. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n. 1, p. 13-20, 2013.

TAVERNISE, S. Cientista quer saber se consumo de carne contribui para resistência a antibióticos. **The New York Times**, Nova York, 03 ago. 2013. Disponível em: <<http://noticias.uol.com.br/saude/ultimas-noticias/redacao/2013/08/03/cientista-quer-saber-se-consumo-de-carne-contribui-para-resistencia-a-antibioticos.htm>> Acesso em: 02 fev. 2016.

VELDMAN, K.; KANT, A.; DIERIKX, C.; VAN ESSEN-ZANDBERGEN, A.; WIT, B.; MEVIUS, D.. Enterobacteriaceae resistant to third-generation cephalosporins and quinolones in fresh culinary herbs imported from Southeast Asia. **International Journal of Food Microbiology**, v. 177, p. 72-77, 2014.

VOETS, G. M.; FLUIT, A.C.; SCHARRINGA, J.; SCHAPENDONK, C.; VAN DEN MUNCKHOF, T.; LEVERSTEIN-VAN HALL, M.; STUART, J. C.. Identical plasmid AmpC beta-lactamase genes and plasmid types in *E. coli* isolates from patients and poultry meat in the Netherlands. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, n. 3, p. 359-362, 2013.

CAPÍTULO III

SOROLOGIA, RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ISOLADOS DE *Escherichia coli* OBTIDOS DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL NO BRASIL

A parte que ignoramos é muito maior que tudo quanto sabemos.

Platão

SOROLOGIA, RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO EM ISOLADOS DE *Escherichia coli* OBTIDOS DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL NO BRASIL

SEROLOGY, ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND THE PRESENCE OF EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE IN *Escherichia coli* ISOLATES OBTAINED FROM FOOD OF ANIMAL ORIGIN IN BRAZIL

Leite, Aline B.¹; Silva, Maurício C.A.², Silva, R.V¹, Costa, Marília L.³; Guimarães, Alaíse G.¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil

²Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil

³Laboratório de Sanidade Animal, Agência de Defesa Agropecuária da Bahia, Salvador, Brasil

ABSTRACT

The aim of this study was to identify serologically and analyze the antimicrobial resistance profile of *E. coli* in foods of animal origin commercialized in Brazil, and its ability to produce extended-spectrum beta-lactamase. Isolates from milk, beef, fish, pork and chicken (n=105), collected between 2006 and 2013, were analyzed. The serology of 101/105 isolates were applied by slide agglutination test. The disk diffusion susceptibility test was applied for resistance profile determination. The method of double disk synergy test (DDST) was used for confirming ESBL production. Thirteen percent of strains (13/101) were positive for diarrheagenic *E. coli* (EPEC, EIEC, EHEC). Multidrug resistance was observed in 48.5% (51/105) of isolates and 70% (74/105) were resistance to one or more antibiotics. The strains showed increased resistance to tetracycline (60/105); and greater sensitivity to amikacin (102/105). Twelve percent (13/105) of strains were positive for ESBL, 92% (12/13) of these coming from chickens.

PRACTICAL APPLICATIONS

Escherichia coli is one of the most frequent microorganisms involved in outbreaks of foodborne illnesses in Brazil and it has the extended-spectrum β -lactamases (ESBL) as a major mechanism of antimicrobial resistance. Little is known in Brazil about the role of the food chain in the transfer of resistance genes for ESBL. In this study, it was found that consumers are exposed to more risk when eating chicken, and that tetracycline and ampicillin were the antimicrobials less efficient due probably to excessive use in veterinary medicine. These results suggest the necessity of a more rigorous surveillance by the government and greater awareness of health professionals, human and animal, on the use of antimicrobials. Given that food supply is nowadays due to international trade, with resistance genes and

resistant microorganisms being spread from a origin country to another, these results may be important not only for Brazil, but also for other countries.

Key-words: Enterobacteriaceae. Multidrug resistance. ESBL. Products of animal origin.

1 INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos são utilizados há décadas na produção animal tanto para o tratamento de doenças quanto para promoção de crescimento dos animais, vindo a auxiliar no aumento da eficiência alimentar e produtividade. Porém o uso contínuo e descontrolado dessas substâncias implicou no surgimento de algumas desvantagens, tal como a ocorrência de resíduos nos alimentos de origem animal. A ingestão de resíduos de antimicrobianos pode desencadear fenômenos alérgicos e alterar o equilíbrio da microbiota do trato intestinal dos consumidores, além de selecionar genes de resistência e/ou bactérias resistentes a tais substâncias entre os representantes da microbiota natural do intestino humano (Rigos, Bitchava and Nengas, 2010), significando, portanto, um potencial problema de saúde pública. Por isso, a Organização Mundial de Saúde recomenda o conhecimento das taxas locais de resistência bacteriana como uma estratégia que visa o uso racional dos antimicrobianos (WHO 2001).

Escherichia coli caracteriza-se como uma bactéria comumente encontrada no intestino de humanos e mamíferos, sendo constantemente reconhecida como agente etiológico de infecções em diferentes tecidos e sistemas orgânicos em humanos (Kaper, Nataro and Mobley 2004, Konemann *et al* 2008). A maioria dos isolados de *E. coli* são inócuos, porém alguns podem causar severas doenças de origem alimentar, incluindo Síndrome Urêmica Hemolítica, especialmente em crianças e idosos (WHO, 2011). Além disso, *E. coli* é citada como uma das bactérias mais frequentemente envolvidas em surtos alimentares no Brasil, atrás apenas de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* (Brasil 2015).

Os antimicrobianos β -lactâmicos têm sido o tratamento de escolha no controle de infecções bacterianas causadas por bactérias Gram-negativas. Entretanto, as β -lactamases continuam sendo a principal causa de resistência bacteriana aos β -lactâmicos e o principal mecanismo de resistência de tais bactérias. Devido a isso, novos antimicrobianos foram desenvolvidos, e a pressão seletiva gerou mutações nos genes decodificadores das β -lactamases clássicas, ampliando seu espectro de inativação. Por isso, a produção de β -lactamases de espectro estendido (do inglês, ESBL) por enterobactérias representa um grande problema na terapia de doenças infecciosas. Estas enzimas conferem resistência às penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos. Dentre os micro-organismos com maior

produção de ESBL destacam-se *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli* (Korzeniewska and Harnisz 2013).

O trato gastrintestinal, de humanos e animais, é um importante reservatório de bactérias produtoras de ESBL (Trot 2013). Assim, uma vez que constantemente se identifica a contaminação de diversos tipos de produtos alimentares por bactérias da microbiota residente do homem (dentre as quais pode haver isolados produtores de ESBL), e que a ingestão de tais produtos pode levar à seleção de isolados resistentes e/ou transferência de genes de resistência, faz-se necessário investigar a participação da cadeia alimentar no processo de disseminação de bactérias produtoras de ESBL.

O objetivo desse trabalho, portanto, foi identificar sorologicamente, analisar o perfil de resistência aos antimicrobianos e a produção de ESBL em isolados de *E. coli* oriundos de diferentes alimentos de origem animal comercializados no Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 105 isolados de *E. coli* provenientes de amostras de leite e de carne de pescado, bovino, suíno e frango e seus derivados, coletados no Estado Bahia (Brasil), entre 2006 e 2013, pertencentes às coleções do Laboratório de Sanidade Animal da Agência de Defesa Agropecuária da Bahia, do Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Carne e Derivados da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e do Laboratório de Estudos em Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFBA, foram analisados no presente estudo. Os isolados encontravam-se estocados em caldo cérebro coração (do inglês, BHI) (Prodimol, Belo Horizonte, Brasil) com 50% de glicerol, a -22°C, e foram reativadas por incubação em caldo BHI a 35°C por 24h.

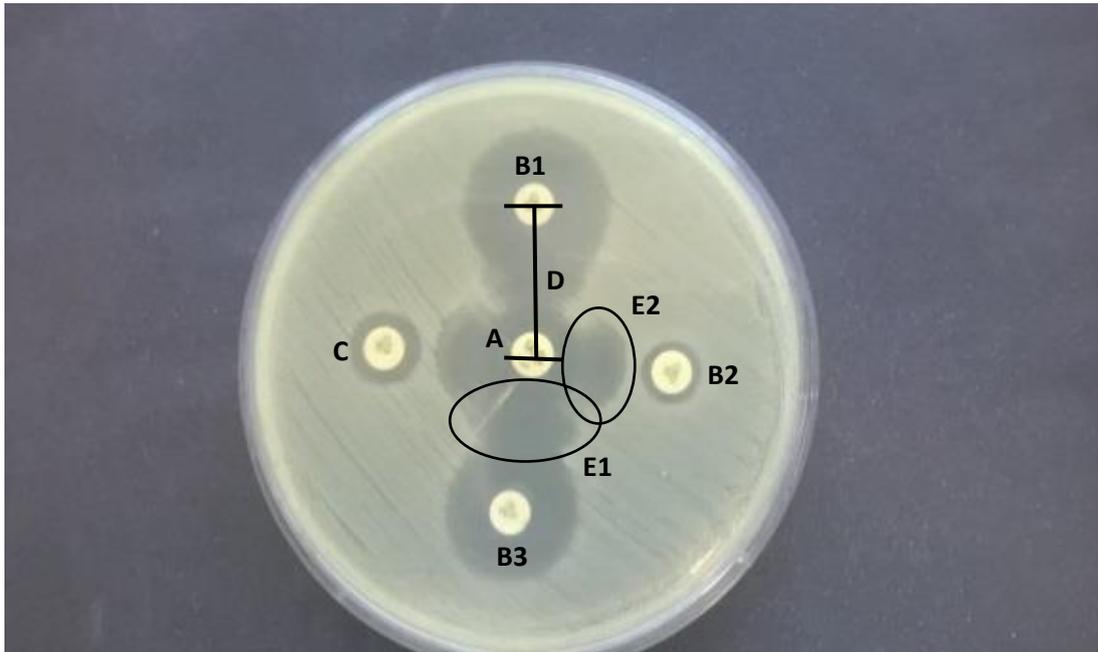
Para a sorologia, após incubação em BHI, os isolados foram semeados em ágar tripton de soja (TSA) (Acumedia, Lansing, EUA) e incubadas a 35°C/48h para o crescimento bacteriano. Após essa etapa, alíquotas do crescimento bacteriano foram colhidas com alça de platina estéril e suspensas em 0,5 mL de solução salina a 0,85% até a formação de uma suspensão suficientemente espessa e leitosa. Alíquotas de aproximadamente 0,2 mL dessa solução foram utilizadas para a realização da prova de aglutinação em lâmina e agregadas ao soro comercial Probac® (Santa Cecília, Brasil) anti *E. coli* enteropatogênica (EPEC) polivalente A, B e C, soro anti *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) polivalente A e B e soro anti *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) na proporção de aproximadamente 0,2 mL da

suspensão bacteriana para aproximadamente 0,5mL do soro, como recomendado pelo fabricante. Para o controle negativo, substituiu-se a suspensão bacteriana por solução salina a 0,85%. A mistura da suspensão bacteriana com o antisoro foi movimentada em placa de vidro por aproximadamente 2 minutos para a observação da aglutinação do conjugado. As reações que resultaram na formação de um agregado completo de partículas no espaço de tempo inferior a 2 minutos foram consideradas positivas. Por outro lado, foram consideradas negativas as reações que não apresentaram aglutinação, ou cuja aglutinação foi parcial, ou aglutinaram num espaço de tempo superior a 2 minutos ou aglutinaram com dois soros polivalentes diferentes (Edwards and Ewing 1972; Koneman 2008).

A fim de investigar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos, foi utilizado o teste de disco-difusão de acordo com as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Intitute* (CLSI 2012; CLSI 2013). Ao todo, quatorze antibióticos (Laborclin, Pinhais, Brasil) foram testados: ampicilina (10 µg), tetraciclina (30 µg), ampicacina (30 µg), gentamicina (10 µg), imipenem (10 µg), amoxicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), cloranfenicol (30 µg), cefalotina (30 µg), sulfametoxazol (1,25 µg)/trimetoprima (23,75 µg) ou sulfazotrim, ceftriaxona (30 µg), ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg) e aztreonam (30 µg). Em cada placa de Petri, de 90 mm de diâmetro, contendo ágar Müller-Hinton, (Sigma-Aldrich, St Louis, EUA) foram colocados cinco discos. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 16 a 18 horas. A leitura foi realizada medindo-se os diâmetros dos halos, e os resultados foram expressos como sensível (S), sensibilidade intermediária (I) ou resistente (R) tomando como base os critérios estabelecidos pelo CLSI (2013) (Apêndice A).

Para a detecção fenotípica de produção de ESBL foi realizado o DDST (*double disk synergy test*) (Figura 1) (Ojer-Usoz *et al.* 2014) . Neste teste, placas de Petri contendo ágar Müller-Hinton (Sigma-Aldrich, St Louis, EUA) foram inoculadas, com auxílio de um *swab*, a partir de soluções salinas com turvação equivalente a 0,5 da escala de MacFarland, as quais foram medidas com um densitômetro (Biosan, EUA). Em seguida, um disco de amoxicilina/ácido clavulânico (20/10 µg) foi disposto no centro da placa e, ao seu redor, os discos de cefalosporinas (ceftriaxona, ceftazidima e cefotaxima) e de aztreonam, distantes 20 mm do disco central. O resultado foi considerado positivo para produção de ESBL quando surgiu uma zona extra (“zona fantasma”) ou um alargamento do halo de inibição das cefalosporinas. A cepa *E. coli* ATCC 25922 foi utilizada como controle negativo do DDST e positivo do antibiograma, enquanto a *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 foi o inverso.

Figura 1. *Double-disc synergy test (DDST).*



No DDST, dispõem-se ao redor de um disco central de amoxicilina/ácido clavulânico (A) discos de cefalosporinas, tais como ceftriaxona (B1), ceftazidima (B2) e cefotaxima (B3), e de aztreonam (C), distantes 20 mm do disco central (D). O resultado será considerado positivo para produção de β -lactamase de espectro estendido (ESBL) se ocorrer alargamento do halo de inibição (E1) ou formação de uma zona extra (“zona fantasma”) (E2) entre o disco central e qualquer um dos discos testados. Fonte: arquivo pessoal.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os isolados analisados, 18/105 (17%) originaram-se de amostras de produtos lácteos; 7/105 (7%) de carne bovina; 61/105 (58%) de frango e derivados, 16/105 (15%) de pescado, 1/105 (1%) de derivado de suíno e 2/105 (2%) de linguiça mista, coletados em 19 cidades do Estado da Bahia (Apêndice B).

Do total de 105 isolados, 101 foram testados sorologicamente para identificação de *E. coli* diarréiogênicas (DEC), dos quais 13 (13%) foram positivos. Destes, 7/13 (54%) foram provenientes de amostras de carne de frango, 4/13 (31%) de leite e derivados, 1/13 (8%) de pescado e 1/13 (8%) de linguiça mista. Foram identificados 6/101 (6%) de *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), 6/101 (6%) de entero-invasivas (EIEC) e 1/101 (1%) de enterohemorrágica (EHEC) (Tabela 1). Os isolados de EIEC apresentaram maior frequência de resistência a ampicilina, tetraciclina, amoxicilina e sulfazotrim (todos com 67% de frequência

de resistência, 4/6); as maiores frequências de resistência entre os isolados de EPEC foram à amoxicilina e cefotaxima (ambos 50%, 3/3), e o de EHEC foi resistente a ampicilina, amoxicilina, cloranfenicol, cefalotina e sulfazotrim. Estudos anteriores, em diversos países, com alimentos, animais ou fezes humanas e animais, detectaram percentuais de resistência tanto menores quanto maiores que o presente estudo, mas todos identificaram a tetraciclina e a ampicilina como dois dos antimicrobianos com mais alto índice de resistência em isolados de *E. coli* diarreio gênica (Bii *et al.* 2005, Canizalez-Roman *et al.* 2013, Adenipekun *et al.* 2015, Hemmatinezhad *et al.* 2015, Shah *et al.* 2015).

Tabela 1. Porcentagem de resistência de isolados diarreio gênicos de *E. coli* provenientes de produtos de origem animal frente a 14 antimicrobianos.

Antibióticos	Percentual de resistência*			
	EIEC (n= 6/101)	EPEC (n= 6/101)	EHEC (n= 1/101)	DEC (n = 13/101)
Ampicilina	67 (4/6)	33 (2/6)	100 (1/1)	54 (7/13)
Tetraciclina	67 (4/6)	33 (2/6)	0	46 (6/13)
Amicacina	17 (1/6)	0	0	8 (1/13)
Gentamicina	0	0	0	0
Imipenem	50 (3/6)	17 (1/6)	0	31 (4/13)
Amoxicilina	67 (4/6)	50 (3/6)	100 (1/1)	62 (8/13)
Ciprofloxacino	33 (2/6)	17 (1/6)	0	23 (3/13)
Cloranfenicol	0	17 (1/6)	100 (1/1)	15 (2/13)
Cefalotina	33 (2/6)	33 (2/6)	100 (1/1)	38 (5/13)
Sulfazotrim	67 (4/6)	17 (1/6)	100 (1/1)	46 (6/13)
Ceftriaxona	17 (1/6)	33 (2/6)	0	23 (3/13)
Ceftazidima	0	33 (2/6)	0	15 (2/13)
Cefotaxima	17 (1/6)	50 (3/6)	0	31 (4/13)
Aztreonam	0	33 (2/6)	0	15 (2/13)
Resist. ≥ 1	100 (6/6)	67 (4/6)	100 (1/1)	85 (11/13)
Multirresist.	50 (3/6)	33 (2/6)	100 (1/1)	46 (6/13)
ESBL	0	17 (1/6)	0	8 (1/13)

*Os percentuais de resistência se referem aos resultados resistente e intermediário. n.: número de isolados/total testados sorologicamente. EIEC: *E. coli* enteroinvasiva. EPEC: *E. coli* enteropatogênica. EHEC: *E. coli* enterohemorrágica. DEC: *E. coli* diarreio gênica. Resist. ≥ 1: resistente a pelo menos 1 disco. Multirrest.: multirresistência (3 ou mais discos). ESBL: produtoras de ESBL.

Do total de isolados analisados, 24/105 (23,5%) foram sensíveis aos 14 antibióticos testados, enquanto 51/105 (48,5%) foram resistentes ao menos a três antibióticos, ou seja, apresentaram multirresistência (Van *et al.* 2008). Os isolados apresentaram maior frequência de resistência à tetraciclina (60/105, 57%), amoxicilina (45/105, 43%) e ampicilina (44/105, 42%); e maior frequência de sensibilidade à amicacina (102/105, 97%), imipenem (94/105, 89%) e gentamicina (93/105, 88%) (Tabelas 2 e 3). Tais resultados corroboram com estudos

anteriores de Arslan and Eyi (2011), que detectou maior frequência de resistência a ampicilina (36/72, 50%) dentre os isolados de *E. coli*, oriundos de carne de varejo comercializados na Turquia; de Ryu *et al* (2012), que identificou maior frequência de resistência a tetraciclina (15/96, 16%) dentre os isolados de *E. coli* provenientes de alimentos comercializados em Seoul, Coreia do Sul; de Rasheed *et al* (2014), que observou maior frequência de resistência a ampicilina e amoxicilina (20/99, 20%), seguidas da tetraciclina (19/99, 19%) dentre os isolados de *E. coli* derivados de alimentos comercializados em Hyderabad, Índia, e de Melo *et al* (2015), que identificou maior frequência de resistência a tetraciclina (25%, n=36) e ampicilina (11%, n=36), dentre os isolados de *E. coli* oriundos de alimentos provenientes do Brasil.

Tabela 2. Taxas de susceptibilidade de 105 isolados de *E. coli*, provenientes de produtos de origem animal, frente a 14 antibióticos.

Antimicrobianos	Número de isolados (%)		
	Resistente	Intermediário	Sensível
Ampicilina	44 (42%)	0	61 (58%)
Tetraciclina	60 (57%)	1 (1%)	44 (42%)
Amicacina	1 (1%)	2 (2%)	102 (97%)
Gentamicina	8 (8%)	4 (4%)	93 (88%)
Imipenem	1 (1%)	10 (10%)	94 (89%)
Amoxicilina	45 (43%)	6 (6%)	54 (51%)
Ciprofloxacino	6 (6%)	20 (19%)	79 (75%)
Cloranfenicol	16 (15%)	0	89 (85%)
Cefalotina	28 (27%)	12 (11%)	65 (62%)
Sulfazotrim	38 (36%)	0	67 (64%)
Ceftriaxona	18 (17%)	10 (10%)	77 (73%)
Ceftazidima	9 (8%)	6 (6%)	90 (86%)
Cefotaxima	18 (17%)	8 (8%)	79 (75%)
Aztreonam	12 (11%)	7 (7%)	86 (82%)

Tabela 3. Porcentagem de resistência de 105 isolados de *E. coli*, provenientes de diferentes produtos de origem animal, frente a 14 antibióticos.

Antibiótico	Porcentagem de resistência*					
	Frango e der. (n=61)	Bovino (n=7)	Pescado (n=16)	Leite e der. (n=18)	Der. de suíno (n=1)	Linguiça mista (n=2)
Ampicilina	56	0	13	33	0	100
Tetraciclina	82	14	31	11	100	100
Amicacina	2	0	0	6	0	50
Gentamicina	16	0	0	11	0	0
Imipenem	8	14	0	11	100	100
Amoxicilina	62	29	13	39	0	100
Ciprofloxacina	41	0	6	0	0	0
Cloranfenicol	21	0	0	11	100	0
Cefalotina	51	29	6	28	0	50
Sulfazotrim	54	0	13	11	0	50
Ceftriaxona	41	0	6	11	0	0
Ceftazidima	23	0	0	6	0	0
Cefotaxima	39	0	0	11	0	0
Aztreonam	28	0	0	11	0	0
Resist. \geq 1	92	14	38	50	100	100
Multirresist.	67	14	13	22	100	100

*Os percentuais de resistência se referem aos resultados resistente e intermediário. der.: derivado. n: número de amostras. Resist. \geq 1: resistente a pelo menos um disco. Multirresist.: Multirresistência (3 ou mais discos).

Dentre os isolados de pescado e derivados, o presente trabalho identificou 31% (5/16) de frequência de resistência à tetraciclina, 13% (2/16), à ampicilina, amoxicilina e sulfametoxazol-trimetoprima, e 6% (1/16) ao ciprofloxacino. Aos demais antimicrobianos testados observou-se 94% (15/16) ou 100% (16/16) de frequência de sensibilidade (Tabela 3). Barbosa *et al* (2014), analisando isolados de *E. coli* oriundos de água e peixes de lagoas de pesque-e-pague em São Paulo, Brasil, observaram 100% na frequência de sensibilidade a cloranfenicol, enquanto o presente trabalho detectou um percentual de 85% dentre todos os isolados analisados, porém igualmente 100% dentre os oriundos de pescado. Os mesmos autores identificaram, ainda, 100% de frequência de sensibilidade a ampicilina entre os isolados oriundos da água; a tetraciclina e sulfametoxazol-trimetoprima dentre os isolados do trato gastro-intestinal; e a ampicilina, tetraciclina e sulfametoxazol-trimetoprima dentre os isolados oriundos dos músculos dos peixes. A maior frequência de sensibilidade a tetraciclina e ampicilina observadas por Barbosa *et al* (2014) em oposição à maior frequência de resistência aos mesmos antibióticos detectadas no presente trabalho pode se dever ao fato dos isolados utilizados no presente estudo terem sido oriundos de atividades de extrativismo, enquanto aqueles estudados por Barbosa *et al* (2014) foram provenientes de ambiente aquático confinado, onde há um maior controle da exposição a antibióticos dos animais e de seu *habitat*.

O risco de ocorrência de doença veiculada por alimento relacionado ao consumo de pescado contaminado se deve não apenas a sua ingestão em si, mas também a sua manipulação durante a operação de limpeza, visto que a superfície dos animais pode estar contaminada pela água, acarretando em contaminação cruzada entre superfícies, utensílios e mãos de manipuladores (Barbosa *et al*, 2014).

Quanto aos isolados de carne de frango e derivados, 80% (49/61), 59% (36/61) e 56% (34/61) foram resistentes à tetraciclina, amoxicilina e ampicilina, respectivamente. Frente à amicacina, imipenem e gentamicina, porém, foi observada frequência de sensibilidade de 98% (60/61), 92% (56/61) e 84% (51/61), respectivamente (Tabela 3). Resultados similares quanto aos antimicrobianos ampicilina e gentamicina foram verificados por Skockova *et al* (2015a), que analisaram a resistência antimicrobiana de isolados de *E. coli* oriundos de carnes comercializadas na República Tcheca. Porém, o estudo também detectou frequência de resistência maior ao ciprofloxacino e menor à tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprima, cloranfenicol e cefotaxima quando comparado aos dados do presente trabalho. Por outro lado, Van *et al* (2008), no Vietnã, detectaram resistência maior a cloranfenicol e gentamicina do que ambos os trabalhos. Apenas quanto ao ciprofloxacino sua resistência foi menor que a dos isolados da República Tcheca, porém maior que as do Brasil. Pesquisadores do Brasil e Vietnã encontraram resultados semelhantes quanto à frequência de resistência à tetraciclina, enquanto os três trabalhos observaram frequência de resistência semelhante à ampicilina, corroborando com Le *et al* (2015), também do Vietnã.

Houve diferenças entre os isolados em relação à multirresistência. Dentre os isolados de amostras de carne de frango, Skockova *et al* (2015a), na República Tcheca, detectaram 51,7% multirresistentes, contra 67% (41/61) observados no presente trabalho e 89,5%, verificados por Van *et al* (2008), no Vietnã. Segundo Van *et al* (2008), o controle e a epidemiologia do uso de antimicrobianos no Vietnã ainda são recentes. Inversamente, a União Europeia possui um dos mais antigos sistemas de controle do uso de antimicrobianos do mundo, enquanto o Brasil encontra-se entre os dois extremos. Os resultados encontrados pelos três grupos de pesquisa demonstram que o controle do uso dessas substâncias é uma das mais eficientes formas de conter a disseminação das bactérias multirresistentes, conforme preconizado pela Organização Mundial de Saúde (WHO 2012). Torna-se importante que tal esforço seja concomitante em todos os países, posto que, devido ao comércio internacional e à globalização, a presença de micro-organismos não se restringe a seus locais de origem, mas disseminam-se e podem trocar genes de resistência nos países de destino, motivo pelo qual a

resistência antimicrobiana é uma preocupação de saúde pública mundial (Paphitou, 2013; Allen, 2014; Skockova *et al* 2015a).

Com relação aos isolados oriundos de carne de bovino e derivados, tanto o presente trabalho quanto Skockova *et al* (2015a) e Van *et al* (2008) não observaram resistência à gentamicina e ciprofloxacino. Também não foram detectados isolados resistentes a imipinem, assim como os estudados por Egervärn *et al* (2014), que analisaram 42 amostras de carne bovina importadas da América Latina pela Suécia, das quais 18 foram oriundas do Brasil. O presente trabalho detectou resistência à tetraciclina (1/7, 14%), cujo percentual foi maior que o dos isolados da República Tcheca (6,6%) (Skockova *et al* 2015a) e menor que o percentual dos do Vietnã (60%) (Van *et al* 2008), levando à mesma discussão tratada quanto à multirresistência dos isolados oriundos de carne de frango e derivados.

O presente trabalho analisou um isolado oriundo de derivado de suíno, o qual foi resistente à tetraciclina, cloranfenicol e sulfametoxazol-trimetoprima (Tabela 3). O isolado foi sensível a imipenem, assim como os isolados de 31 amostras de carne suína importada pela Suécia analisados por Egervärn *et al* (2014). Confirmando a ponderação quanto à multirresistência de isolados oriundos de carne de frango, também os provenientes de carne suína no Vietnã (Van *et al* 2008) apresentaram maior resistência aos antibióticos testados também por Skockova *et al* (2015a) (ampicilina, cloranfenicol, gentamicina, tetraciclina e ciprofloxacino). Porém, o percentual de multirresistência foi menor, sendo 31,3% no Vietnã, contra 75% na Suécia. Acredita-se que o baixo índice de multirresistência dos isolados oriundos de carne de suínos no Vietnã pode, de alguma forma, estar associado a sua reduzida participação no comércio internacional de animais e produtos de origem animal, o que reduz a entrada de micro-organismos resistentes no país.

Dentre os isolados oriundos de leite e derivados, foram observados 33% (6/18), 39% (5/18) e 28% (3/18) de frequência de resistência a ampicilina, amoxicilina e cefalotina, respectivamente, e 22% (4/18) de multirresistência. Demais antibióticos apresentaram entre 89% (16/18) e 100% (18/18) de frequência de sensibilidade (Tabela 3). Skockova *et al* (2015b), analisando amostras de leite cru na República Tcheca, também encontraram maior frequência de resistência entre os beta-lactâmicos (31,8%). O percentual de multirresistência, porém, foi menor do que o do presente estudo (5,5%), provavelmente devido ao maior controle do uso de antimicrobianos na produção animal naquele país.

A resistência antimicrobiana pode ocorrer por mutação genética (resistência intrínseca) ou por aquisição de elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons, através de conjugação, transdução ou transformação (resistência adquirida). Quando se utiliza antimicrobianos, a pressão seletiva destes favorece bactérias possuidoras de mecanismos de resistência, as quais adquirem vantagem de sobrevivência e transmitem para outras bactérias seus genes de resistência (MacGowan and Macnaughton 2013). Micro-organismos que possuem resistência adquirida representam um risco maior para a saúde pública que aqueles que possuem resistência intrínseca. Isto porque os elementos genéticos móveis, além de serem mais facilmente transferidos entre micro-organismos, podem possuir genes de resistência a mais de um antimicrobiano, tornando os micro-organismos que os adquire multirresistentes, o que reduz a probabilidade de sucesso da antibioticoterapia (García-Alvarez *et al* 2012; Trot 2013). A alta frequência de resistência à tetraciclina, amoxicilina e ampicilina encontrada no presente trabalho apresenta-se, portanto, como um resultado de grande relevância, não apenas por se tratarem de antimicrobianos largamente utilizados na medicina humana, mas pelo fato de seus genes de resistência estarem geralmente presentes em elementos móveis (Sunde and Norström 2006; Lim *et al* 2009; Ozgumus *et al* 2009; Akortha, Aluyi and Enerijiofi 2011).

Quanto à produção de ESBL, identificou-se 13 isolados (13/105, 12,7%) fenotipicamente positivos. Dentre estes, 92% (12/13) foram oriundos de carne de frango e derivados e 8% (1/13), de derivado de leite, coletados em seis cidades do Estado. Observou-se ainda que 100% (13/13) desses isolados foram sensíveis a imipenem. Por outro lado, 92% (12/13) foram resistentes a cefalotina; 85% (11/13) a ampicilina e amoxicilina e 77% (10/13) a tetraciclina (Tabela 4). Dentre os 13 isolados de DEC, apenas um (1/13, 8%) foi produtor de ESBL, o qual foi identificado como EPEC, proveniente de uma amostra de carne de frango. Rasheed *et al* (2014) encontraram incidência menor (4%) de *E. coli* produtoras de ESBL e frequência de sensibilidade de 100% a imipenem e a cloranfenicol. Eles observaram, ainda, que todos os isolados produtores de ESBL foram sensíveis a ceftazidima e cefotaxima, enquanto o presente trabalho encontrou percentuais de sensibilidade de 62% (8/13) e 23% (3/13), respectivamente. Isso pode estar relacionado a um maior controle governamental da comercialização e/ou uma menor frequência no uso desses antimicrobianos na Índia em comparação ao Brasil, levando a uma menor exposição, e conseqüentemente menor taxa de resistência, dos micro-organismos daquele país a tais substâncias.

Tabela 4. Taxas de suscetibilidade dos 13 isolados de *E. coli* produtores de beta-lactamases de amplo espectro (ESBL) frente a 14 antibióticos testados.

Antimicrobianos	Número de isolados (%)		
	Resistente	Intermediário	Sensível
Ampicilina	11 (85%)	0	2 (15%)
Tetraciclina	10 (77%)	0	3 (23%)
Amicacina	1 (8%)	0	12 (92%)
Gentamicina	3 (23%)	1 (8%)	9 (69%)
Imipenem	0	0	13 (100%)
Amoxicilina	11 (85%)	0	2 (15%)
Ciprofloxacino	0	7 (54%)	6 (46%)
Cloranfenicol	2 (15%)	0	11 (85%)
Cefalotina	12 (92%)	0	1 (8%)
Sulfazotrim	7 (54%)	0	6 (46%)
Ceftriaxona	8 (62%)	3 (23%)	2 (15%)
Ceftazidima	2 (15%)	3 (23%)	8 (62%)
Cefotaxima	8 (62%)	2 (15%)	3 (23%)
Aztreonam	6 (46%)	2 (15%)	5 (39%)

O Brasil tem grande destaque no mercado internacional de carne de frango, sendo o terceiro maior produtor e o principal exportador deste produto. Seus maiores importadores são Japão, Arábia Saudita, México e União Europeia. A identificação de um alto percentual de isolados positivos para produção de ESBL oriundas de carne de frango e derivados, como o encontrado no presente trabalho, é um fator que pode prejudicar as exportações brasileiras, tendo em vista o alto nível de exigência sanitária desses países importadores (Silva and Lincopan 2012; USDA, 2015). O presente resultado corrobora com os achados de Egervärn *et al* (2014), que analisaram a presença de *E. coli* produtoras de ESBL em carne importada pela Suécia, tendo o produto brasileiro se destacado na prevalência de tais micro-organismos.

4 CONCLUSÃO

Os três sorotipos estudados (EPEC, EIEC e EHEC) foram encontrados dentre os isolados testados sorologicamente, os quais apresentaram resistência principalmente a amoxicilina e ampicilina, e foram, em sua maioria, oriundos de amostras de carne de frango. Dentre os antimicrobianos estudados, os isolados apresentaram as maiores frequências de resistência à tetraciclina, à ampicilina e à amoxicilina, em consequência do seu possível uso excessivo na medicina veterinária e humana. Dentre os isolados produtores de ESBL,

oriundos principalmente de amostras de carne de frango, somente um foi identificado como DEC (EPEC), e a maioria mostrou-se resistente a cefalotina, ampicilina e amoxicilina. Conclui-se, portanto, que a população brasileira, por meio da alimentação, expõe-se constantemente a micro-organismos patogênicos resistentes a antimicrobianos frequentemente utilizados na medicina humana, o que pode acarretar na ocorrência de doenças veiculadas por alimentos de difícil tratamento. Infere-se ainda que a carne de frango confere grande risco ao consumidor, por ter apresentado maior prevalência de DEC, de isolados multirresistentes bem como de isolados de *E. coli* produtores de ESBL. Uma vez que atualmente a oferta de alimentos se dá por meio do comércio internacional, estes resultados podem ser importantes não só para o Brasil, mas também para outros países. Esses resultados sugerem a necessidade de uma vigilância mais rigorosa sobre a fabricação e distribuição dos antimicrobianos por parte do governo e maior consciência e cuidado dos profissionais de saúde humana e animal ao prescrevê-los, a fim de reduzir a seleção e disseminação de micro-organismos resistentes.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à MV Ms. Daniela Benevides Melo e ao Laboratório de Sanidade Animal da Agência de Defesa Agropecuária da Bahia por fornecerem os isolados usados neste estudo, e ao Laboratório de Microbiologia Clínica da Universidade Federal da Bahia por ter cedido os isolados controle. Agradecemos também à Profa. Dra. Lia Fernandes por ter cedido a estrutura do Laboratório de Sanidade Avícola da Universidade Federal da Bahia para que parte das análises fosse executada. Este trabalho teve o suporte financeiro da CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Processo 456165/2014-2.

REFERÊNCIAS

- ADENIPEKUN, E.O., JACKSON, C.R., OLUWADUN, A., IWALOKUN, B.A., FRYE, J.G., BARRETT, J.B., HIOTT, L.M. and WOODLEY, T. 2015. Prevalence and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from food animals in Lagos, Nigeria. **Microb. Drug Resist.**, 21 (3), pp. 358-365.
- AKORTHA, E.E; ALUYI, H.S.A. and ENERRIJIOFI, K.E. 2011. Transfer of amoxicillin resistance gene among bacterial isolates from sputum of pneumonia patients attending the University of Benin Teaching Hospital, Benin City, Nigeria. **Shiraz E-Med. J.**, 12 (4), pp. 179-188.
- ALLEN, H. K. 2014. Antibiotic resistance gene discovery in food-producing animals. **Curr. Opin. Microbiol.**, 19, pp. 25-29.
- ARSLAN, S. and EYI, A. 2011. Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in *Escherichia coli* from retail meats. **J. Food Saf.**, 31, pp. 262-267.
- BARBOSA, M. M. C., PINTO, F. R., RIBEIRO, L. F., GURIZ, C. S. L., FERRAUDO, A. S., MALUTA, R. P., RIGOBELLO, E. C., ÁVILA, F. A. and AMARAL, L. A. 2014. Serology and patterns of antimicrobial susceptibility in *Escherichia coli* isolates from pay-to-fish ponds. **Arq. Instit. Biol.**, 81(1), pp. 43-48.
- BII, C.C., TAGUCHI, H., OUKO, T.T., MUITA, L.W., WAMAE, N. and KAMIYA, S. 2005. Detection of virulence-related genes by multiplex PCR in multidrug-resistance diarrhoeagenic *Escherichia coli* isolates from Kenia and Japan. **Epidemiol. Infect.**, 133 (4), pp. 627-633.
- BRASIL.** Ministério da Saúde. Doenças Transmitidas por Alimentos. 2015. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/outubro/19/Apresenta----o-dados-gerais-DTA-2015.pdf>> Acesso em 05 nov. 2015.
- CANIZALEZ-ROMAN, A., GONZALEZ-NUÑES, E., VIDAL, J.E., FLORES-VILLASEÑOR, H. and LÉON-SICAIROS, N. 2013. Prevalence and antibiotic resistance profiles of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from items in northwestern Mexico. **Int. J. Food Microbiol.**, 164, pp. 36-45.
- CLSI. 2013. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement.* **CLSI document M100-S23.** Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- _____. 2012. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - Eleventh Edition.* **CLSI document M02-A11.** Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, PA, USA

- EDWARDS, P. R. and EWING, W. H. 1972. **Identification of Enterobacteriaceae**. Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota.
- EGERVÄRN, M., BÖRJESSON, S., BYFORS, S., FINN, M., KAIPE, C., ENGLUND, S. and LINDBLAD, M. 2014. *Escherichia coli* with extended-spectrum beta-lactamases or transferable AmpC beta-lactamases and *Salmonella* on meat imported into Sweden. **Int. J. Food Microbiol.**, 171, pp. 8-14.
- GARCÍA-ALVAREZ, L.; DAWSON, S.; COOKSON, B.; HAWKEY, P. 2012. Working across the veterinary and human health sectors. **J. Antimicrob. Chemother.**, 67 (Suppl 1), pp. i37-i49.
- HEMMATINEZHAD, B., KHAMESIPOUR, F., MOHAMMAD, M., DEHKORDI, F.S. and MASHAK, Z. 2015. Microbiological investigation of O-serogroups, virulence factors and antimicrobial resistance properties of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from Ostrich, Turkey and Quail Meats. **J. Food Saf.**, 35, pp. 491-500.
- KAPER, J.B., NATARO, J.P. and MOBLEY, H.L.T. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat. Rev., Microbiol.**, 2, pp. 123-140.
- KONEMAN, E. W. and ALLEN, S. D. 2008. **Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology**, 6^a Edição. J.B. Lincott Company, Philadelphia.
- KORZENIEWSKA, E. and HARNISZ, M. 2013. Beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in hospital effluents. **J. Environ. Manag.**, 123, pp. 1-7.
- LE, Q.P., UEDA, S., NGUYEN, T. N. H., DAO, T. V. K., HOANG, T.A.V., TRAN, T.T.N., HIRAI, I., NAKAYAMA, T., KAWAHARA, R., DO, T.H., VIEN, Q.M. and YAMAMOTO, Y. 2015. Characteristics of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in retail meats and shrimp at a local market in Vietnam. **Foodborne Pathog. Dis.**, 12 (8), 719-725.
- LIM, K.T.; YASIN, R.; YEO, C.C.; PUTHUCHEARY, S. and THONG, K.L 2009. Characterization of multidrug resistant ESBL-producing *Escherichia coli* isolates from hospitals in Malaysia. **J. Biomed. Biotech.**, 2009, 10p. doi:10.1155/2009/165637.
- MACGOWAN, A and MACNAUGHTON, E. 2013. Antibiotic resistance. **Medicine**, 41 (11), pp. 642-648.
- MELO, D.B.; MENEZES, A.P.O.; REIS, J.N.; GUIMARÃES, A.G. 2015. Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Escherichia coli* isolated from humans and foods. **Braz. J. Microbiol.**, 46 (4), pp. 1165-1170.

OJER-USOZ, E., GONZÁLEZ, D., GARCÍA-JALÓN, I. and VITAS, A.I. 2014. High dissemination of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in effluents from wastewater treatment plants. **Water Res.**, 56, pp. 37-47.

OZGUMUS, O.B.; SANDALLI, C.; SEVIM, A.; CLIK-SEVIM, E. and SIVRI, N. 2009. Class 1 and class 2 integrons and plasmid-mediated antibiotic resistance in coliforms isolated from ten rivers in Northern Turkey. **J. Microbiol.**, 47 (1), pp. 19-27.

PAPHITOU, N. I. 2013. Antimicrobial resistance: action to combat the rising microbial challenges. **Int. J. Antimicrob. Ag.**, 42S, pp. S25-S28.

RASHEED, M. U., THAJUDDIN, N., AHAMED, P., TEKLEMARIA, Z. and JAMIL, K. 2014. Antimicrobial drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated of food sources. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, 56(4), pp. 341-346.

RIGOS, G., BITCHAVA, K. and NENGAS, I. 2010. Antimicrobial drugs in products originating from aquaculture: assessing the risks to public welfare. **Medit. Mar. Sci.**, 11(1), pp. 33-41.

RYU, S.-H., LEE, J.-H., PARK, S.-H., SONG, M.-O., PARK, S.-H., JUNG, H.-W., PARK, G.-Y., CHOI, S.-M., KIM, M.-S, CHAE, Y.-Z., PARK, S.-G. and LEE, Y.-K. Antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from commercial and cooked foods. 2012. **Int. J. Food Microbiol.**, 159, pp. 263-266

SHAH, M.S., EPPINGER, M., AHMED, S., SHAH, A.A., HAMEED, A. and HASAN, F. 2015. Multidrug-resistance diarrheagenic *E. coli* pathotypes are associated with ready-to-eat salad and vegetables in Pakistan. **J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem**, 58 (2), pp. 267-273.

SILVA, K. C. and LINCOPAN, N. 2012. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, 48(2), pp. 91-99.

SKOCKOVA, A, KOLACKOVA, I., BOGDANOVICOVA, K. and KARPISKOVA, R. 2015a. Characteristic and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from retail meats purchased in the Czech Republic. **Food Control**, 47, pp. 401-406.

_____, BOGDANOVICOVA, K., KOLACKOVA, I., and KARPISKOVA, R. 2015b. Antimicrobial-resistant and Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Raw Cow's Milk. **J. Food Prot.**, 78(1), pp. 72-77.

SUNDE, M. and NORSTRÖM, M. 2006. The prevalence of, associations between and conjugal transfer of antibiotic resistance genes in *Escherichia coli* isolated from Norwegian meat and meat products. **J. Antimicrob. Chemother.**, 58, pp. 741-747.

TROTT, D. 2013. β -lactam resistance in Gram-negative pathogens isolated from animals. **Curr. Pharm. Des.**, 19, pp. 239-249.

USDA. United State Department of Agriculture. Livestock and Poultry: World Market and Trade. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.PDF> Acesso em: 28 out 2015

VAN, T.T.H., CHIN, J., CHAPMAN, T., TRAN, L.T. and COLOE, P.J. 2008. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: An analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. **Int. J. Food Microbiol.**, 124, pp. 217-223.

WHO. 2012. WORLD HEALTH ORGANIZATION. The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44812/1/9789241503181_eng.pdf> Acesso em: 22 jan. 2016

_____. 2011. WORLD HEALTH ORGANIZATION. FactSheet nº 125. 2011. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/>> Acesso em 03 jan. 2014

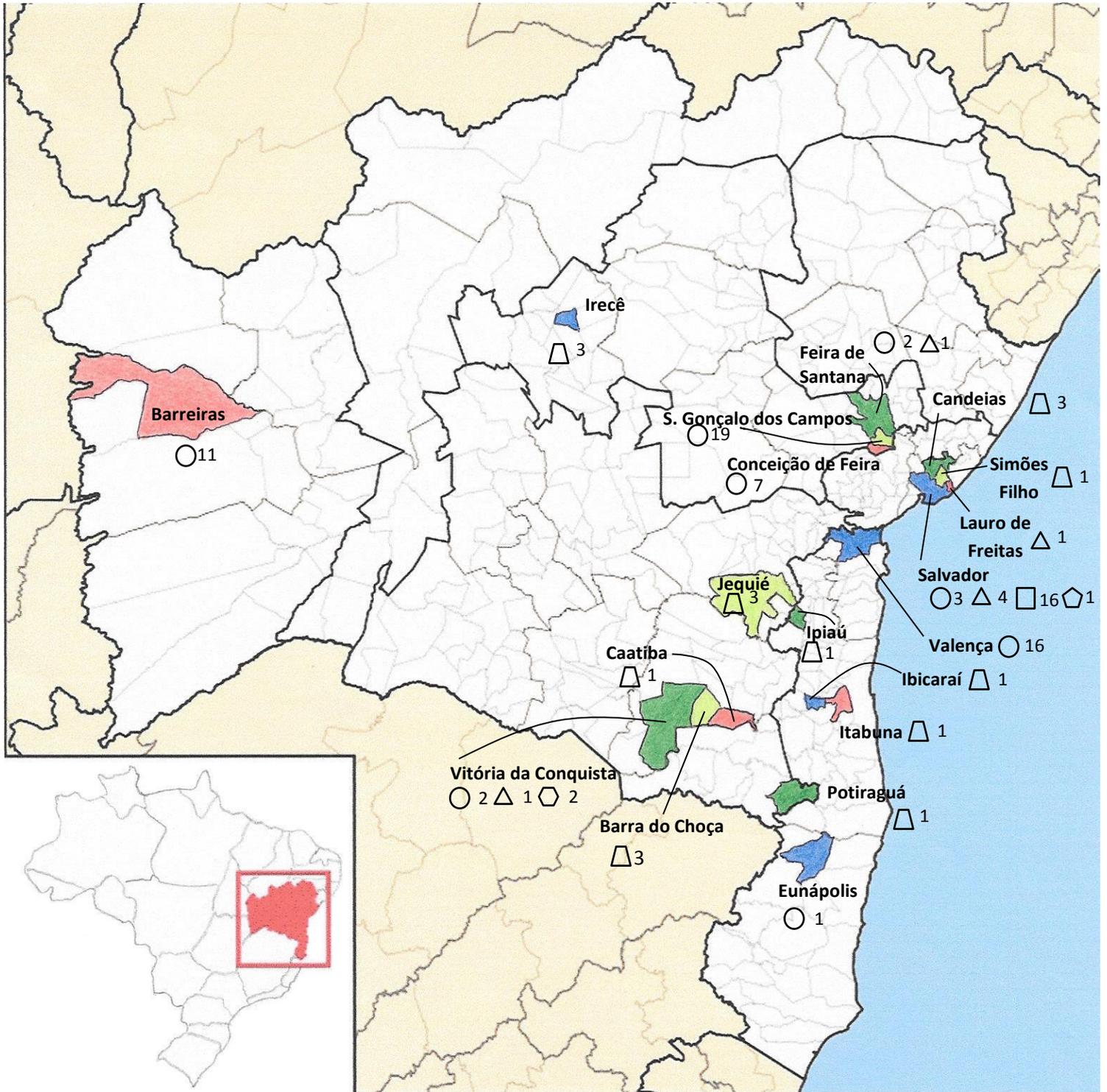
_____. 2001. WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Disponível em: http://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf Acesso em 22 jan. 2016

APÊNDICE A – Critérios interpretativos dos diâmetros das zonas de inibição conforme o *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

Antimicrobianos	Interpretação		
	Sensível	Intermediário	Resistente
<u>Penicilinas</u>			
Ampicilina 10 µg	≥17	14-16	≤13
Amoxicilina 30 µg	≥17	14-16	≤13
Amoxicilina (20 µg)/ácido clavulânico (10 µg)	≥18	14-17	≤13
<u>Cefalosporinas</u>			
Cefalotina 30 µg	≥18	15-17	≤14
Cefotaxima 30 µg	≥26	23-25	≤22
Ceftazidima 30 µg	≥21	18-20	≤17
Ceftriaxona 30 µg	≥23	20-22	≤19
<u>Monobactâmico</u>			
Aztreonam 30 µg	≥21	18-20	≤17
<u>Carbapenem</u>			
Imipenem 10 µg	≥23	20-22	≤19
<u>Aminoglicosídeos</u>			
Amicacina 30 µg	≥17	15-16	≤14
Gentamicina 10 µg	≥15	13/14	≤12
<u>Tetraciclina</u>			
Tetraciclina 30 µg	≥15	12-14	≤11
<u>Fluoroquinolona</u>			
Ciprofloxacina 5 µg	≥21	16-20	≤15
<u>Inibidor da via do folato</u>			
Sulfametoxazol (23,75 µg) / trimetropim (1,25 µg)	≥16	11-15	≤10
<u>Fenicol</u>			
Cloranfenicol 30 µg	≥18	13-17	≤12

Fonte: adaptado de CLSI, 2013.

APÊNDICE B – Mapa de distribuição das amostras analisadas.



Legenda

- Carne de frango ou derivado
- Carne de pescado ou derivado
- ⬠ Derivado de suíno
- △ Carne de bovino ou derivado
- ▤ Leite ou derivado
- ⬡ Linguiça mista