



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**OCORRÊNCIA DE ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETA
LACTAMASE DE ESPECTRO AMPLIADO (ESBL) EM CARCAÇAS DE
FRANGO COMERCIALIZADAS NO ESTADO DA PARAÍBA**

PRISCYLLA CARVALHO VASCONCELOS

AREIA - PB
FEVEREIRO - 2017

PRISCYLLA CARVALHO VASCONCELOS

**OCORRÊNCIA DE ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETA
LACTAMASE DE ESPECTRO AMPLIADO (ESBL) EM CARCAÇAS DE
FRANGO COMERCIALIZADAS NO ESTADO DA PARAÍBA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira – (DZ- CCA/UFPB) – Orientador Principal

Prof. Dr. Lauro Santos Filho (DCF-CCS/UFPB)

Prof. Dr. Oliveira Caetano de Freitas Neto (DCV-CCA/UFPB)

AREIA - PB

FEVEREIRO – 2017

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

V3310 Vasconcelos, Priscylla Carvalho.

Ocorrência de enterobactérias produtoras de beta lactamase de espectro
ampliado (Esbl) em carcaças de frango comercializadas no estado da Paraíba /
Priscylla Carvalho Vasconcelos. - Areia: UFPB/CCA, 2017.

50 f. ; il.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade
Federal da Paraíba, Areia, 2017.

Bibliografia.

Orientador: Celso José Bruno de Oliveira.

1. Carcaças de frangos – Resistência aos antimicrobianos 2. Carnes de frango –
Resistência bacteriana 3. Frangos de corte – Ocorrências de enterobactérias I. Oliveira,
Celso José Bruno de (Orientador) II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 636.5(043.3)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PRISCYLLA CARVALHO VASCONCELOS – ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns no ano de 2009. Foi bolsista de extensão entre 2010 e 2014, participando dos projetos “Orientações para a produção de leites e derivados do leite de búfalas em propriedades da zona da mata do Estado de Pernambuco” e “Ações de capacitação para maximização da produção de búfalos no Estado de Pernambuco”, ambos sob orientação do Prof. Dr. Ricardo Alexandre Silva Pessoa. Participou na organização de projeto de extensão em 2014 intitulado “Sábados zootécnicos”, sob orientação do Prof. Dr. Jorge Eduardo Lucena. Diplomou-se em 2015, quando realizou trabalho de conclusão de curso intitulado “Caracterização da Apicultura no Agreste de Pernambuco – Microrregião de Garanhuns”, sob a orientação do professor Dr. Marcelo de Oliveira Milfont. No ano de 2015, ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, na área de concentração Produção Animal, tendo como linha de pesquisa Avaliação de Produtos de Origem Animal e como orientador principal o Prof. Dr Celso José Bruno de Oliveira.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: "Ocorrência de enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) em carcaças de frango comercializadas no Estado da Paraíba"

AUTORA: Priscylla Carvalho Vasconcelos

ORIENTADOR: Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira
Presidente
Universidade Federal da Paraíba

Profa. Dra. Patrícia Emilia Naves Givisiez
Examinadora
Instituto Federal da Paraíba

Prof. Dr. Danilo Tanciel Sipp
Examinador
Universidade Federal de São Carlos

Areia, 23 de fevereiro de 2017

“Deus não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo só depende da nossa vontade e perseverança.”

(Albert Einstein)

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

Aos meus pais João José de Vasconcelos e Verônica M. B. Carvalho Vasconcelos por nunca deixarem de acreditar na minha capacidade de perseverar, pela preocupação e dedicação;

A minha filha tão amada Ana Sophia Vasconcelos Lucas por ser meu maior incentivo na luta diária;

Ao meu companheiro Wagner Lucas por todo carinho, por acreditar e me lembrar sempre que eu iria conseguir e pelo incentivo sempre que precisei durante a dura jornada;

Ao meu irmão Thyago por se fazer presente.

À minha tia Núbia Carvalho (in memoriam)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me encoraja e me faz ir em frente sempre. Pela confiança e amor constante, mesmo em meio a minha ausência; pelas oportunidades que foram e estão sendo dadas; pelas pessoas que Ele colocou em minha vida para ajudar a trilhar meu caminho profissional.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Paraíba, pela oportunidade concedida e ao CNPq pela concessão da bolsa.

Aos professores Celso José Bruno de Oliveira e Lauro Santos Filho pela orientação e confiança. Obrigada por todo o incentivo e ensinamentos.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, bem como a todos os funcionários da Pós-graduação pelo respeito e carinho.

À minha família, por todo o incentivo, amor e atenção, acreditando sempre em mim.

Aos meus Amores, Wagner e Ana Sophia, por toda paciência e ajuda. Diante de um pensamento comum de um futuro melhor, seu amor e companheirismo me renovaram a cada obstáculo.

A equipe de trabalho do Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal (LAPOA): Candice, Laelia e Mauro pela ajuda, disponibilidade e compreensão.

Às queridas: Leandra Cavalcante, Fatima Sousa, Vanessa Gomes, Danila Araújo, Cíntia Mireli e Lusiana, por me escutarem nos momentos de raiva e desespero quando tudo dava errado e pelos momentos de descontração, rir com vocês é sempre bom.

A sr. Edivan (técnico do NUMETROP) por ter contribuído para realização do meu trabalho nunca deixando de faltar meio de cultura e me ajudando com o descarte do material.

Aos que não torceram pelo meu sucesso, aqueles que não torcem pela minha vitória, agradeço de forma mais especial com a ressalva: “Pedras no caminho? Guardo todas, um dia vou construir um castelo...” (Fernando Pessoa);

A todos que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização de mais uma etapa em minha vida

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

| | Página |
|---|---------------|
| Lista de Tabelas | viii |
| Lista de Figuras | ix |
| Resumo | x |
| Abstract | xi |
| Introdução | 1 |
| Referencial teórico..... | 3 |
| FAMÍLIA <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> | 3 |
| <i>Escherichia coli</i> | 3 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 4 |
| <i>Pseudomonas</i> spp. | 5 |
| MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS | 6 |
| MECANISMO DE RESISTÊNCIA AOS β -LACTÂMICOS | 8 |
| CLASSIFICAÇÃO DAS β -LACTAMASES | 10 |
| β -LACTAMASES DE ESPECTRO AMPLIADO (ESBL) | 11 |
| β -LACTAMASES AmpC | 13 |
| CARBAPENEMASES | 14 |
| PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE E A DISSEMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA EM CARNE DE FRANGO NO BRASIL | 14 |
| Material e Métodos | 17 |
| LAVAGEM DAS CARÇAÇAS DE FRANGOS | 17 |
| ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA DAS ENTEROBACTÉRIAS..... | 17 |
| AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA <i>in vitro</i> | 18 |
| DETECÇÃO DE CARBAPENEMASES | 21 |
| ANÁLISE DOS DADOS | 22 |
| Resultados e discussão | 23 |
| Conclusão | 29 |
| Referências bibliográficas | 30 |

LISTA DE TABELAS

| | Página |
|---|--------|
| Tabela 1: Apresentação dos meios utilizados nas provas bioquímicas e seu funcionamento para identificação genérica dos microrganismos..... | 18 |
| Tabela 2: Padrão para interpretação dos halos de inibição dos antimicrobianos utilizados | 20 |
| Tabela 3: Padrão para interpretação dos halos de inibição às carbapenemas..... | 21 |
| Tabela 4: Frequências absoluta e relativa de enterobactérias em carcaças de frango comercializados no Estado da Paraíba..... | 23 |
| Tabela 5: Frequências absoluta e frequência relativa de bactérias resistentes a diferentes classes de antimicrobianos pelo teste de disco-difusão | 24 |
| Tabela 6: Cepas positivas para o teste fenotípico confirmatório de produção de β -lactamase de espectro ampliado de acordo com o gênero e presença de halo para fantasma para cada antimicrobiano utilizado..... | 26 |
| Tabela 7: Probabilidade de associação entre as cefalosporinas de terceira geração e o inibidor de β -lactamases avaliados no presente estudo (Teste Exato de Fisher) | 27 |
| Tabela 8: Frequência absoluta e frequência relativa de bactérias produtoras de carbapenemases em carcaças inteiras de frango comercializadas no Estado da Paraíba. | 28 |

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|---|---------------|
| Figura 1: Representação molecular de uma cefalosporina de primeira geração (A) e de uma cefalosporina de terceira geração (B)..... | 9 |
| Figura 2: Teste de aproximação de discos para detecção de ESBL. (A) combinação dos discos para detecção de ESBL e presença do halo fantasma; (B) combinação dos discos sem a presença do halo fantasma | 20 |

OCORRÊNCIA DE ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETA LACTAMASE DE ESPECTRO AMPLIADO (ESBL) EM CARCAÇAS DE FRANGO COMERCIALIZADAS NO ESTADO DA PARAÍBA.

RESUMO – A resistência antimicrobiana é crescente em bactérias de seres humanos e animais de todo o mundo. A produção de beta lactamases é o principal mecanismo de resistência a beta lactâmicos em bactérias Gram-negativas. No entanto, a ocorrência de patógenos produtores de beta lactamases de espectro ampliado (ESBL) é de grande importância em saúde pública, pois essas bactérias são resistentes também a drogas não lactâmicas, como fluoroquinolonas e aminoglicosídeos, limitando as opções de tratamento. Nesse sentido, o monitoramento de bactérias produtoras de ESBL na cadeia de alimentos é importante para o controle das infecções em humanos, pois os genes de resistência podem ser transferidos para patógenos. O objetivo deste estudo foi investigar a ocorrência de enterobactérias produtoras de ESBL em carcaças de frango comercializadas no Estado da Paraíba. Foi realizado isolamento microbiológico, através da técnica de lavagem com água peptonada, em 50 carcaças de frango (congeladas, resfriadas e *in natura*) adquiridas de estabelecimentos comerciais. Após incubação, os lavados (20 µL) foram transferidos para caldo infusão cérebro coração suplementado com ceftriaxona (1mg/L). O plaqueamento foi realizado em ágar MacConkey e os microrganismos identificados através de provas fenotípicas. Após a identificação, as bactérias foram submetidas ao teste de susceptibilidade antimicrobiana *in vitro* pelo método de disco-difusão. Adicionalmente, foram realizados testes de aproximação ao disco de amoxicilina/ácido clavulânico para identificação das cepas produtoras da enzima beta lactamase de espectro ampliado, beta lactamase AmpC e carbapenemases. Do total de 150 enterobactérias investigadas, *Escherichia* spp. (35,1%), *Klebsiella* spp. (33,1%) e *Pseudomonas* spp. (21,2%) foram os generos de maior ocorrência. Dentre as bactérias produtoras de ESBL, foram identificadas 15 (30%) *Klebsiella* spp., 7 (13,2%) *E. coli*, 1 (3,2%) *Pseudomonas* spp. and 1 *Shigella* spp. Os antimicrobianos cefotaxima e ceftriaxona apresentaram associação significativa quanto à capacidade de identificar cepas ESBL. A identificação de *Pseudomonas* spp. resistentes a carbapenemases, principalmente ertapenem (17%) e meropenem (3,5%) é um achado importante e reforça a necessidade de maiores investigações sobre a ocorrência de resistência na microbiota de carcaças de frango comercializadas na Paraíba.

Palavras-chave: *Escherichia* spp.; *Klebsiella* spp.; *Pseudomonas* spp.; resistência bacteriana.

OCCURRENCE OF EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE (ESBL)-PRODUCING ENTEROBACTERIACEAE IN CHICKEN CARCASSES MARKETED IN PARAIBA STATE

ABSTRACT – Antimicrobial resistance has been increasingly observed in bacteria isolated from both humans and animals. The production of beta lactamases is very common and is considered the main mechanism of resistance against beta-lactam antimicrobials in Gram-negative bacteria. However, the occurrence of extended-spectrum beta-lactamases producing bacteria is of major concern, since they are also resistant against non-lactam drugs, such as fluoroquinolones e aminoglycosides could limit therapeutic options in humans. In this sense, the monitoring of ESBL-producing bacteria in the food chain is important to ultimately decrease infections in humans given the fact that resistant genes can be transferred to pathogenic bacteria. The aim of this study was to investigate the occurrence of extended spectrum beta lactamases (ESBL) in enterobacteria cultured from chicken carcasses marketed in Paraiba State, Brazil. A total of 50 carcasses (fresh, frozen, or cooled) were rinsed using buffered peptone water. After incubation, aliquots (20 μ L) were transferred to Brain Heart Infusion broth supplemented with ceftriaxone (1 mg/L). Culture was performed using MacConkey agar plates and isolated bacteria identified by means of phenotypic tests. Antimicrobial susceptibility test was performed using disk diffusion method (Kirby-Bauer). Furthermore, Double Disc Synergy Tests (DDST) was performed to identify ESBL and carbapenemases. A total of 150 isolates were cultured and *Escherichia* spp. (35.1%) *Klebsiella* spp. (33.1%) and *Pseudomonas* spp. (21.2%) were the most prevalent genera. Among confirmed ESBL-producing bacteria, 15 (30%) *Klebsiella* spp., 7 (13.20%) *E. coli*, 1 (3,2%) *Pseudomonas* spp. and 1 *Shigella* spp. were identified. Although cefoxitin and ceftriaxone were the most sensitive drugs to confirm ESBL by the DDST test, a positive association between those drugs was observed. *Pseudomonas* isolates showing antimicrobial resistance against carbapenems, mainly ertapenem (17%) and meropenem (3,5%) is of great concern and reinforce the need to further investigate the occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from chicken carcasses marketed in Paraiba State and their real impact in public health.

Key words: Antimicrobial resistance; *Escherichia* spp.; *Klebsiella* spp.; *Pseudomonas* spp.

1. INTRODUÇÃO

A criação de frangos de corte é uma atividade produtiva bem tecnificada no Brasil. O país está ranqueado como o segundo maior produtor de carne de frangos. Em 2015, a produção de carne de frango totalizou 13,146 milhões de toneladas (ABPA, 2015). Entretanto, alguns pontos relacionados à segurança alimentar são considerados decisivos, uma vez que este alimento pode transmitir microrganismos patogênicos aos seres humanos.

Apesar de ter havido grandes avanços nos processos de produção e nas medidas sanitárias aplicadas às aves, o controle e a redução de agentes associados a doenças transmissíveis por alimentos (DTAs) nas carcaças de frangos e produtos avícolas ainda é um desafio. A contaminação das carcaças de frangos é representada por uma microbiota originária principalmente das aves vivas, do ambiente de criação ou incorporadas durante a manipulação e as operações de abate, especialmente se o processo de abate não for realizado com o devido cuidado (MANI-LÓPEZ, GARCÍA & LÓPEZ-MALO, 2012).

Os antimicrobianos são administrados comumente na criação de aves para o tratamento de infecções, profilaxia e em baixas concentrações para favorecer significativamente o ganho de peso e a conversão alimentar dos animais (SANTOS, 2012). A prática de utilização de antimicrobianos em baixas concentrações nas rações animais, com a finalidade de promover o crescimento, é uma prática comum (MORENO-BONDI, 2009; ZHAO, et al., 2010; MODI et al., 2011) e pode estar associada ao aparecimento e a disseminação de microrganismos resistentes, um problema sério em saúde pública

O maior problema na disseminação da resistência bacteriana é a aquisição de genes codificadores de resistência por microrganismos de importância clínica. Nos últimos anos, têm sido crescentes as alterações no perfil de sensibilidade de várias bactérias a diferentes tipos de drogas antimicrobianas. O tipo de resistência em microrganismos Gram-negativos, como *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Klebsiella pneumoniae*, apresenta relação com o antimicrobiano de escolha em infecções causadas por esses patógenos (RICE, 2009; DAVIES & DAVIES, 2010).

Segundo a Organização Mundial de saúde (OMS), bactérias dos gêneros *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia* spp. e *Enterococcus* spp. geralmente são transferidas dos alimentos de origem animal para os consumidores (WALLINGA & BURCH, 2013). Bactérias resistentes a antibióticos também podem contaminar os alimentos destinados ao consumo humano durante etapas de abate e manipulação (MARSHAL & STUART, 2013).

34 Dentro da família *Enterobacteriaceae*, os mecanismos de resistência de maior
35 preocupação são relacionados à produção de β -lactamases, ou seja, enzimas sintetizadas e
36 que conferem resistência aos antibióticos β -lactâmicos. Neste grupo de enzimas, as mais
37 conhecidas são as β -lactamases de espectro ampliado (ESBL-Extended Spectrum Beta-
38 lactamase), as AmpC β -lactamases sintetizadas pelo gene *ampC* e as carbapenemases
39 (NOYAL et al., 2009; MEYER & PICOLI, 2011).

40 As ESBL têm como característica principal causar resistência aos β -lactâmicos de
41 terceira geração, quarta geração e aos monobactâmicos. No entanto, não conferem
42 resistência às cefamicinas e aos carbapenêmicos (GARCÍA, GÁNDARA & GARCÍA,
43 2010).

44 As β -lactamases AmpC utilizam como substrato as penicilinas, cefalosporinas e os
45 monobactâmicos. Porém, o que remete a diferença às ESBL é que as bactérias que
46 produzem β -lactamases através do gene AmpC têm capacidade de hidrolisar cefamicinas e
47 não são inibidas por inibidores de β -lactamases (JACOBY, 2009; BUSH & JACOBY,
48 2010).

49 Bradford (2001) afirmou que, devido à habilidade dos microrganismos de produzir
50 diferentes tipos de mecanismos de resistência, a detecção de microrganismos resistentes
51 continua sendo um grande desafio na rotina laboratorial. Adicionalmente, os
52 conhecimentos sobre a presença de enterobactérias produtoras de β -lactamases em
53 alimentos é muito escasso, especialmente na região Nordeste do Brasil.

54 Sendo assim, o objetivo deste estudo foi investigar a ocorrência de cepas de
55 enterobactérias produtoras de β -lactamases isoladas de carcaças de frangos
56 comercializadas no Estado da Paraíba.

57

58

59

60

61

62

63

64

65

66

67 2. REFERENCIAL TEÓRICO

68

69 2.1. FAMÍLIA *ENTEROBACTERIACEAE*

70 O grupo das enterobactérias é considerado o principal causador de infecções em
71 pacientes hospitalizados (ASENSIO et al., 2011). Os integrantes desta família são Gram-
72 negativos com forma bacilar ou cocobacilar e seu tamanho pode variar entre 0,3 e 1,8µm.
73 Ainda podem ser móveis devido à presença de flagelos peritríquios, ou imóveis. Alguns
74 produzem cápsula, toxinas e fatores de virulência, possuindo uma complexa estrutura
75 antigênica. A maioria das espécies se desenvolve bem à temperatura de 37 °C, entretanto
76 algumas apresentam 25 e 30°C como temperatura ótima, sendo frequentemente mais ativas
77 metabolicamente a estas temperaturas (KONEMAN, 2010).

78 Os membros desta família são ubíquos, sendo abundantemente distribuídos na
79 natureza, encontrados na água, no solo, nas plantas e no trato gastrintestinal de seres
80 humanos e animais (HOLT et al., 1994; KONEMAN, 2010; OLIVEIRA, 2013;
81 TAVARES, 2014).

82 A maioria das infecções são causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*,
83 *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Citrobacter* spp. e *Serratia marcescens*,
84 com grande destaque para a três primeiras (ASENSIO et al., 2011). Os membros desta
85 família abrangem um total de 51 gêneros e 279 espécies documentadas (EUZÉBI, 2010).
86 No entanto, cerca de 20 a 25 gêneros são causadores de patologias (BROOKS et al., 2012).
87 A taxonomia desta família é complexa e vem sendo rapidamente modificada com a
88 introdução de novos métodos de tipagem, como hibridação e metodologias de
89 sequenciamento (TAVARES, 2014).

90 Os microrganismos pertencentes a essa família não formam esporos, são anaeróbios
91 facultativos, fermentam glicose com produção de ácido, reduzem nitrato a nitrito, são
92 catalase-positivos (exceto *Shigella dysenteriae*) e oxidase-negativos, com exceção de
93 *Plesiomonas*, gênero recentemente incluído nesta família (TILLE, 2014). As
94 enterobactérias são a principal causa de infecções intestinais no mundo sendo comumente
95 associados a infecções hospitalar.

96

97 2.1.1. *Escherichia coli*

98 A *E. coli* é a principal bactéria do gênero *Escherichia*. É um agente patogênico
99 muito comumente presente no ambiente em geral como em ambiente hospitalar
100 (EISENSTEIN & ZALEZNIK, 2000). É um bacilo curto, Gram-negativo, não esporulado,

101 medindo entre 1,1 a 1,5 µm por 2 a 6 µm, a maioria é móvel, em virtude da existência de
102 flagelos peritríqueos. A temperatura ótima de duplicação é por volta dos 37 °C
103 (OLIVEIRA et al., 2004; QUINN et al., 2005). Apresenta-se produzindo colônias rosadas
104 (lactose positivas) em ágar MacConkey. Como propriedades bioquímicas, a *E. coli*
105 fermenta lactose, produz indol à partir de triptofano, fermenta glicose pela via de ácidos
106 mistos. Não produz ácido sulfídrico (H₂S), DNase, urease ou fenilalanina desaminase e não
107 utiliza citrato como fonte de carbono (BOPP et al., 2003).

108 Este microrganismo faz parte do grupo de coliformes fecais, sendo considerado o
109 mais específico indicador de contaminação fecal e eventual presença de bactérias
110 patogênicas (OLIVEIRA et al., 2004). Diversos fatores contribuem para a disseminação e
111 persistência de *E. coli* no meio ambiente. Além de ser excretado em grande quantidade nas
112 fezes, pode sobreviver nas partículas fecais, poeira e água por semanas ou meses, contudo
113 seu ambiente normal é o trato intestinal (SAVIOLLI, 2010). Também pode ser encontrado
114 na cama aviária de granjas, poeira, água, ração e no intestino de aves saudáveis. Tem rapidez
115 na sua multiplicação utilizando grande variedade de materiais como nutrientes
116 (ANDRADE, 2005).

117 Vale destacar que *E. coli* possui importância médica em virtude das infecções que
118 provoca e também pelo surgimento de estirpes multirresistentes aos antibióticos utilizados
119 para terapêutica, profilaxia ou como promotor de crescimento em animais (MURRAY et
120 al., 2007).

121

122 **2.1.2. *Klebsiella pneumoniae***

123 *K. pneumoniae* é um bastonete Gram-negativo aeróbio facultativo, apresentando
124 melhor crescimento em condições aeróbias, é não esporulado e seu tamanho varia de 0,3 a
125 1 µm de diâmetro e 0,6 a 6µm de comprimento, sendo imóvel. Em ágar MacConkey,
126 produz colônias róseas, brilhantes, com aspecto elevado e de consistência mucóide. As
127 colônias formadas são grandes em razão de uma cápsula mucóide polissacarídica
128 (Antígeno K) que protege contra a fagocitose por granulócitos, contra a ação de fatores
129 bactericidas do soro e ainda tem função de auxiliar na adesão (UMED, 2002; MARTÍNEZ
130 et al., 2004).

131 Como propriedades bioquímicas da *Klebsiella* destaca-se fermentação da glicose e
132 da lactose, com produção exacerbada de gás, descarboxilação da lisina, não produz indol,

133 não descaboxila a ornitina, utiliza o citrato como fonte de carbono e também hidrolisa a
134 ureia (GALES, 1997; KONEMAN et al., 2001).

135 A *Klebsiella* é um microrganismo resistente a múltiplas drogas, tornando-se um
136 problema no ambiente hospitalar (MARRA, 2011). Cerca de 2 a 5% das infecções
137 hospitalares, respiratórias e urinárias, são associadas a este tipo de microrganismo.
138 Pesquisas revelam ainda que a metade de todos os genes produtores de ESBL ocorre em
139 *Klebsiella pneumoniae* (MARTINS-LOUREIRO et al., 2001; PFALLER & SERGRETTI,
140 2006), estudos mais recentes revelaram a existência de *Klebsiella pneumoniae* produtoras
141 de carbapenemases, popularmente conhecidas como KPC, e detectada pela primeira vez
142 em 1996 nos EUA (FIGUEIRAL & FARIA, 2015).

143 Após rápido desenvolvimento pela costa da América do Norte, muitos registros de
144 casos surgiram em diferentes regiões do mundo, sendo identificados em diferentes
145 membros das enterobactérias no Estados Unidos, Escócia, Colômbia, China e Israel e
146 transmitidas a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (VILLEGAS et al., 2006; WALTHER-
147 RASMUSSEN & HOIBY, 2007; VILLEGAS et al., 2007). No Brasil, foram relatados
148 casos de infecções por KPC nas cidades do Rio de Janeiro, São Paulo e Recife
149 (MONTEIRO et al., 2009; PAVEZ et al., 2009).

150

151 **2.1.3. *Pseudomonas* spp.**

152 São bacilos Gram-negativos, considerados importantes agentes de infecções
153 hospitalares e isolados frequentemente em laboratórios de microbiologia (MURRAY et al.,
154 2003). Pertencem à família *Pseudomonadaceae*, são bactérias aeróbias, de 2 a 4 µm de
155 comprimento, móveis devido à presença de flagelos polares que têm um importante papel
156 na patogenicidade. Podem apresentar pigmentação, como fluorescência de pirocianina
157 (verde-azul) e pirogrina (verde-amarelo) (WILCOX, 2004).

158 Crescem bem em ágar MacConkey, não fermentam açúcares, são versáteis
159 nutricionalmente e podem, portanto, utilizar grande variedade de substratos. Sua
160 temperatura ótima de crescimento é entre 30 e 37 °C; entretanto podem se multiplicar em
161 temperaturas baixas (KISKA et al., 1999).

162 Este gênero bacteriano é composto por bactérias bem adaptáveis, capazes de
163 colonizar vários nichos ambientais, entre eles o solo, habitats marinhos, plantas e animais.
164 *Pseudomonas* spp. também são patógenos oportunistas de seres humanos que podem
165 causar infecção nos olhos, ouvidos, pele, uretra e trato respiratório na fibrose cística (FC)
166 em pacientes queimados (TASHIRO, UCHIYAMA & NOMURA, 2012).

167 No Brasil, o fenômeno da multirresistência é comumente encontrado em isolados
168 destes microrganismos em ambiente hospitalar. A *P. aeruginosa* resistente a múltiplas
169 drogas é um exemplo de uma das principais causas de pneumonia relacionadas a infecções
170 hospitalares nas unidades de terapia intensiva do país (ROSSI, 2011).

171

172 **2.2. MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS**

173 A descoberta acidental de uma substância produzida naturalmente por um tipo de
174 fungo com capacidade de inibir o crescimento bacteriano, por Alexander Fleming em
175 1929, promoveu um grande avanço para a terapêutica das doenças infecciosas (FLEMING,
176 1929; TODAR, 2008). Esta substância recebeu o nome de penicilina em razão de ser
177 produzida pelo fungo *Penicillium notatum* (SOUSA, 2006; TODAR, 2008). Este evento
178 veio alterar fortemente o andamento dos tratamentos contra infecções bacterianas, já que a
179 molécula apresentava poucos efeitos nocivos para as células humanas, levando assim a
180 iniciar um processo de produção comercial de antibióticos bem como sua administração
181 terapêutica (SOUSA, 2006).

182 Por volta dos anos 40, foi descoberta uma substância produzida por uma cepa de
183 *Escherichia coli* que tinha o poder de inativar a ação da penicilina (ABRAHAM &
184 CHAIN, 1940). Ainda nos anos 40, até a década de 60, observou-se o desenvolvimento e
185 disseminação de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a esta mesma droga em
186 ambiente hospitalar (MEDEIROS, 1997).

187 O começo do uso dos antimicrobianos no século XX foi um grande avanço para o
188 tratamento de infecções. Apesar disso, o crescente uso dos antibióticos em humanos, em
189 animais e na agricultura, tem contribuído para a seleção e dispersão de microrganismos
190 resistentes, sendo atualmente um dos mais graves problemas para a saúde pública
191 (TODAR, 2008; CANTÓN & MOROSINI, 2011). Berquo *et al.* (2004) propõem que o
192 emprego crescente e indiscriminado de drogas antimicrobianas esteja associado à
193 emergência de cepas microbianas resistentes em todo o mundo.

194 A resistência antimicrobiana consiste na habilidade de um microrganismo em tolerar
195 a presença, no meio, de um antimicrobiano ao qual seria sensível anteriormente. Desta
196 maneira, os tratamentos convencionais tornam-se ineficazes, fazendo com que as infecções
197 persistam, podendo ser disseminadas (WHO, 2015). Diante disso, pode-se dizer que a
198 resistência antimicrobiana é, em parte, consequência da utilização negligente e
199 indiscriminada deste tipo de droga, promovendo a pressão seletiva e apresentando como
200 resultado a seleção e predominância de isolados bacterianos cada vez mais resistentes.

201 No Brasil, não existem ou não são utilizados protocolos terapêuticos regulamentados.
202 Isso resulta em grande diferença nos padrões de prescrição, originando insucesso
203 terapêutico e recidivas de infecções, situações frequentemente encontradas no meio animal
204 (DEL FIOL et al., 2011).

205 O problema da resistência microbiana tem aumentado rapidamente pelo mundo todo
206 nos últimos anos, provocando a necessidade de se conhecer o perfil de sensibilidade das
207 bactérias causadoras de infecções mais frequentes, como também o modo de disseminação
208 da resistência (TOSSIN, 2001).

209 A resistência pode ocorrer de dois tipos: intrínseca (natural) ou extrínseca
210 (adquirida). A resistência intrínseca é consistentemente herdada pelas células, estando
211 presente na maioria das estirpes que compõem um grupo, um gênero ou uma espécie
212 bacteriana particular. Já a resistência extrínseca é, em geral, decorrente de mutações no
213 material genético bacteriano e seleção ou aquisição de material genético codificando genes
214 de resistência, através de bacteriófagos (transdução), incorporação do DNA
215 (transformação) ou aquisição de um plasmídeo (conjugação) (COAN, 2014).

216 As bactérias podem ser classificadas em resistentes, intermediárias e sensíveis aos
217 antimicrobianos. Esta classificação acontece com a realização do antibiograma, através da
218 medição dos halos de inibição e comparação aos padrões previamente regulamentados,
219 como por exemplo, no *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Para tal,
220 determina-se como sensível a cepa que pode ser tratada com as doses comumente
221 indicadas, intermediária ocorre quando o diâmetro do halo se encontra próximo ao do
222 resistente e resistente ocorre quando os microrganismos não são inibidos pelas
223 concentrações usuais de antimicrobianos (SILVA, 2007).

224 Os microrganismos possuem alguns mecanismos que os tornam resistentes e, como
225 principais, destacam-se a modificação da proteína alvo, a inativação enzimática, alteração
226 da permeabilidade da membrana externa bacteriana e a bomba de efluxo (COSTA, 2002;
227 NIKAIDO, 2009).

228 A resistência advinda da modificação da proteína alvo surge de substituições dos
229 aminoácidos da proteína que constitui o alvo do antibiótico. A inativação enzimática se dá
230 quando uma enzima produzida pelo microrganismo é capaz de inibir a ação do
231 antimicrobiano. É o caso das β -lactamases, que conseguem inativar o antibiótico β -
232 lactâmico causando a clivagem do anel β -lactâmico. A redução da permeabilidade da
233 membrana externa pode ser associada frequentemente a resistência bacteriana,

234 principalmente dos microrganismos Gram-negativos onde a diminuição da permeabilidade
235 influencia de maneira positiva para a entrada de moléculas, como antibióticos, na célula. O
236 mecanismo de efluxo é uma propriedade bacteriana que expulsa ativamente o
237 antimicrobiano para o exterior da célula (DIAS, 2009).

238 Antibióticos β -lactâmicos são largamente empregados no tratamento de infecções por
239 enterobactérias. No entanto, tem sido registrado um aumento no isolamento de bactérias,
240 membros desta família, com resistência a várias classes de antibióticos, o que tem limitado
241 as opções terapêuticas. No grupo das enterobactérias, *Escherichia coli* e *Klebsiella*
242 *pneumoniae* destacam-se como as espécies mais rotineiramente relacionadas com a
243 produção de β -lactamases (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

244

245 **2.3. MECANISMO DE RESISTÊNCIA AOS β -LACTÂMICOS**

246 Os β -lactâmicos constituem um grupo numeroso de antimicrobianos que possuem
247 um anel β -lactâmico na sua estrutura química e estão classificados em sub-grupos, entre
248 eles estão as penicilinas, monobactâmicos, cefalosporinas e carbapenêmicos. Embora todos
249 possuam o anel β -lactâmico, a química dos membros desta família de antimicrobianos é
250 diferente, podendo conter tipos distintos de cadeias lineares. Como consequência, tais
251 diferenças interferem nas características, no espectro de ação e no tipo de resistência às β -
252 lactamases (SUÁREZ & GUDIOL, 2009).

253 Presume-se que o mecanismo de ação do antimicrobiano, em síntese, funcione
254 através da ligação do anel β -lactâmico às proteínas da parede celular bacteriana (PBPs).
255 Esta ligação faz com que as PBPs não exerçam seu papel, gerando o rompimento da parede
256 celular e morte bacteriana (SUÁREZ & GUDIOL, 2009). Em contrapartida à ação dos
257 antibióticos β -lactâmicos existem as β -lactamases, que são definidas como enzimas
258 capazes de clivar o anel β -lactâmico, ou seja, inativam a ação dos antibióticos (ROSSI &
259 ANDREAZZI, 2005).

260 Há diferentes tipos de β -lactamases e, dentre elas, as chamadas β -lactamases de
261 Espectro Ampliado (ESBL), produzidas a partir de mutações em genes plasmídeos, têm
262 grande relevância clínica e epidemiológica (MARTINS & PICOLI, 2011). A localização
263 desse gene de resistência no plasmídeo facilita a sua disseminação entre bactérias Gram-
264 negativas, principalmente entre as enterobactérias, mediante processo de conjugação. Esses
265 plasmídeos de resistência muitas vezes já possuem genes que atribuem resistência a outras
266 classes de drogas como as quinolonas e os aminoglicosídeos e, por isso, cepas produtoras

267 de ESBL de ambiente hospitalar tendem a ser multirresistentes (LAGO, FUENTEFRIA &
268 FUENTEFRIA, 2010).

269 No início da década de 60, as penicilinas semissintéticas e as cefalosporinas de
270 primeira geração foram introduzidas no mercado, tornando-se habitualmente utilizadas no
271 tratamento das infecções (MEDEIROS, 1997). No entanto, a produção de β -lactamases foi
272 detectada ainda no ano de 1960, em um isolado de *Escherichia coli* de hemocultura em
273 uma paciente internada na Grécia. Este gene foi denominado TEM-1. Dentro de pouco
274 tempo, o plasmídeo contendo esse gene espalhou-se pelo mundo, sendo também
275 encontrado em diferentes membros da família *Enterobacteriaceae*, como *Pseudomonas*
276 *auruginosa*, *Haemophilus influenza* e *Neisseria gonorrhoeae*. Pouco depois, outra β -
277 lactamase, sintetizada a partir do gene SHV-1, foi descrita em isolados de *Klebsiella*
278 *pneumoniae* e *Escherichia coli*, sendo mais comumente encontrada em *K. pneumoniae*.
279 Relatos da literatura apontam que mais de 90% dos isolados de *E. coli* resistentes a
280 ampicilina estão associados ao gene TEM-1, enquanto aproximadamente 20% da
281 resistência em *K. pneumoniae* está associada ao gene SHV-1 (BRADFORD, 2001).

282 No final da década de 70 houve um grande avanço na luta contra a resistência
283 ocasionada pelas β -lactamases. A adição sintética de um radical metoxiamino à molécula
284 de cefalosporina, capaz de proteger o anel β -lactâmico do ataque das β -lactamases
285 clássicas, originou as cefalosporinas de terceira geração (LIVERMORE, 2008).



286

287 **Figura 1:** Representação molecular de uma cefalosporina de primeira geração (A) e de
288 uma cefalosporina de terceira geração (B). Fonte: LEBEDEV, 2017

289 As cefalosporinas de terceira geração foram desenvolvidas inicialmente para serem
290 capazes de superar a resistência causada pelas β -lactamases mais comuns (BRADFORD,
291 2001). Esta nova classe de antimicrobianos também teve seu uso frequente para o
292 tratamento de infecções graves causadas por microrganismos Gram-negativos, desde o seu
293 ingresso no final da década de 70 e início dos anos 80, haja vista que os β -lactâmicos
294 ceftriaxona, cefotaxima e ceftazidima apresentavam uma boa estabilidade contra β -

295 lactamases sintetizadas pelos genes TEM-1 e SHV-1 (PATERSON & BOMOMO, 2005;
296 DENTON, 2007). No entanto, a cada nova classe desenvolvida, surgiram novas β -
297 lactamases devido ao seu uso contínuo e prolongado. Estes novos tipos de β -lactamases
298 adquiriram a capacidade de hidrolisar as penicilinas, as cefalosporinas de pequeno e largo
299 espectro e os monobactâmicos, sendo por isso designadas de β -lactamases de espectro
300 ampliado (*Extended Spectrum β -Lactamases* – ESBL).

301

302 **2.3.1. CLASSIFICAÇÃO DAS β -LACTAMASES**

303 Por muitos anos, alguns esquemas, baseados nas características bioquímicas,
304 funcionais e moleculares das enzimas foram propostos na tentativa de classificar as β -
305 lactamases (SAMAH-KFOURY & ARAJ, 2003). Atualmente, duas das classificações
306 tornaram-se mais conhecidas e utilizadas. São as propostas por Ambler (1980), baseada na
307 similaridade entre sequências de aminoácidos e a proposta por Bush, Jacoby e Medeiros
308 (1995), fundamentada nas características físicas e funcionais de cada enzima. Em 2010,
309 Bush & Jacoby perpetraram uma atualização.

310 Ambler dividiu as β -lactamases em quatro classes (A, B, C e D) agrupadas de
311 acordo com a semelhança entre as sequências de aminoácidos. As classes A, C e D
312 possuem o sítio de ação composto por serinas (serina- β -lactamases), enquanto a classe B,
313 também chamadas metalo-beta-lactamases, utilizam o zinco (Zn) como cofator (AMBLER,
314 1980; DALMARCO, BLATT, CÓRDOVA; 2006). A Classe C foi separada em 1981 das
315 demais serina- β -lactamases, ficando conhecidas como AmpC β -lactamases (JAURIN e
316 GRUNDSTROM, 1981). A Classe D, que incluiu as enzimas capazes de hidrolisar a
317 oxacilina, foi separada das demais ao final da década de 80 no século passado (HALL e
318 BARLOW, 2005).

319 A classificação por Bush, Jacoby e Medeiros considera o perfil do substrato, as
320 propriedades de inibição, além de características físicas (peso molecular e ponto isoelétrico
321 das enzimas). Os autores dividiram as β -lactamases em quatro grupos. O grupo 1 é
322 composto pelas enzimas que não são inibidas pelo ácido clavulânico (cefalosporinases). O
323 grupo 2 pelas enzimas de largo espectro inibidas pelo ácido clavulânico (penicilinas e
324 cefalosporinas). O grupo 3 por enzimas que necessitam do zinco como cofator, atuam
325 sobre penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos. Os membros deste grupo não são
326 inibidos pelo ácido clavulânico, entretanto, o ácido etilenoaminotetracético (EDTA) que
327 possui ação quelante sobre o zinco é capaz de inibi-los (metalo- β -lactamases). O grupo 4 é

328 composto pelas enzimas penicilinases que são inibidas pelo ácido clavulânico (β -
329 lactamases codificadas pelo plasmídeo OXA) (ROSSI & ANDREAZZI, 2005).

330 A atualização realizada por Bush & Jacoby (2010) expõe uma classificação baseada
331 nos grupos funcionais, permitindo ao clínico correlacionar as propriedades de cada enzima
332 com o perfil de resistência observado em cada isolado clínico. A partir de então, as β -
333 lactamases foram divididas em três grupos. O grupo 1 é composto pelas enzimas da classe
334 C de Ambler, que são mais ativas contra cefalosporinas, e não são inibidas pelos inibidores
335 de β -lactamases (ácido clavulânico e tazobactam). Ao grupo 2 pertencem as serina- β -
336 lactamases (classes A e D de Ambler). Este grupo representa o maior grupo de β -
337 lactamases e, por isso, é dividido em subgrupos, conforme o espectro de ação de cada
338 enzima. Alguns dos representantes são ESBL, CTX-M e KPC. No grupo 3, as enzimas
339 necessitam do íon zinco em seu sítio de ação para produzir atividade contra os
340 antimicrobianos. Este é o grupo das metalo-beta-lactamases, que apresentam habilidade de
341 hidrolisar carbapenêmicos e são inibidas por quelantes de íons zinco, como o EDTA.

342

343 **2.3.2. AS β -LACTAMASES DE ESPECTRO AMPLIADO (ESBL)**

344 Nas três últimas décadas, diversas definições para as β -lactamases de espectro
345 ampliado têm sido utilizadas, algumas baseadas no espectro e no perfil de inibição, outras
346 na história evolutiva. O termo ESBL, proposto em 1988, foi atribuído às enzimas derivadas
347 de TEM e SHV capazes de hidrolisar as cefalosporinas de terceira geração (BRADFORD,
348 2001). Entretanto, em 2006, em uma conferência da ESCMID (*European Society of*
349 *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*), o termo ESBL foi ampliado para
350 introduzir as enzimas com espectro semelhante ao daquelas mutantes de TEM e SHV, mas
351 decorrentes de outras fontes, como as CTX-M, PER e VEB; TEM e SHV mutantes e com
352 atividade ESBL *borderline*; e por fim, as várias β -lactamases que conferem maior
353 resistência que suas precursoras, mas que não são reunidas no grupo 2be (LIVERMORE,
354 2008).

355 Livermore (2008) e Garcia, Gándara & Garcia (2010) propõem que as ESBL são
356 enzimas codificadas por plasmídeos, que geralmente são derivadas dos genes TEM e SHV.
357 Estas enzimas são capazes de hidrolisar β -lactâmicos de espectro ampliado como
358 cefalosporinas de terceira geração (ceftazidima, ceftriaxona e cefotaxima), a cefalosporina
359 de quarta geração (cefepime), os monobactâmicos (aztreonam), não sendo capazes de
360 hidrolisar as cefamicinas (cefexitina) e os carbapenêmicos (ertapenem, imipenem e

361 meropenem) e são inibidas pelos inibidores de β -lactamases como ácido clavulânico,
362 sulbactam e tazobactam.

363 Existem relatos de genes codificadores de ESBL que apresentam diversidade de
364 graus de afinidade aos diferentes substratos, ou seja, uma ESBL pode hidrolisar
365 especificamente ceftriaxona e cefotaxima, mas não hidrolisar ceftazidima e vice-versa, ou
366 ainda, hidrolisar todas as cefalosporinas (BRADFORD, 2001; PATERSON & BONOMO,
367 2005).

368 Bactérias produtoras de ESBL são, rotineiramente, resistentes também a fármacos
369 não β -lactâmicos, como as fluorquinolonas e aminoglicosídeos, diminuindo ainda mais as
370 opções terapêuticas para estes casos (WEINBREN & BORTHWICK, 2005).

371 A primeira β -lactamase de espectro ampliado foi descrita em 1983 na Alemanha,
372 isolada de *K. ozaenae*, denominada TEM-2. Pouco tempo depois, em 1985, houve o
373 primeiro caso clínico, em um surto na França com estirpes produtoras de TEM-3 (ROSSI
374 & ANDREAZZI, 2005). As principais estirpes produtoras deste tipo de enzimas são *K.*
375 *pneumoniae* e *E. coli*, devido não só à existência de diversos plasmídeos que contem genes
376 que codificam as ESBLs, mas também por serem bactérias mais adaptadas ao ambiente
377 hospitalar, sobrevivendo algum tempo tanto nas mãos dos portadores como também nas
378 superfícies, facilitando assim a contaminação cruzada dentro do hospital (PATERSON &
379 BOMOMO, 2005). Estas enzimas podem ser encontradas também em *Proteus mirabilis*,
380 *Citroacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*,
381 *Serratia marcescens*, *Salmonella* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* (VARAIYA et al.,
382 2008).

383 Alguns fatores predisõem à disseminação e infecção por cepas portadoras de β -
384 lactamases, incluindo a permanência prolongada de pacientes em estado grave nos
385 hospitais e o uso prolongado e constante de antibióticos, especialmente das cefalosporinas
386 de terceira geração, quinolonas e aminoglicosídeos. As unidades de cuidados intensivos,
387 inclusive as neonatais, são geralmente os principais locais onde podem ser encontradas
388 cepas resistentes a múltiplas drogas (PATERSON & BOMOMO, 2005; GUPTA, 2007).
389 Outras ESBLs têm sido citadas, com as CTX-M, as quais são as ESBLs mais comumente
390 encontradas, superando TEM e SHV (JORGENSES et al., 2009).

391 Apesar de menos frequente do que a produção de ESBL, a expressão de β -
392 lactamases AmpC também é capaz de conferir resistência às cefalosporinas, sendo um

393 problema principalmente nas infecções causadas por *Enterobacter aerogenes* e *E. cloacae*
394 (JACOBY, 2009).

395

396 **2.3.3. β -LACTAMASES AmpC**

397 As β -lactamases conhecidas como cefalosporinases cromossomais ou AmpC são
398 enzimas codificadas por genes de origem cromossômica ou plasmideal. São capazes de
399 hidrolisar penicilinas, monobactâmicos e cefalosporinas de até terceira geração. A
400 resistência à cefoxitina, do grupo das cefamicinas, é o principal marcador da expressão de
401 AmpC. Cepas produtoras de AmpC são, habitualmente, resistentes também a drogas não β -
402 lactâmicas, como aminoglicosídeos, cloranfenicol, quinolonas, sulfonamidas, tetraciclina
403 e trimetopim. As β -lactamases AmpC também não são inibidas pelo ácido clavulânico e o
404 tazobactam e não são capazes de hidrolisar cefalosporinas de quarta geração e
405 carbapenêmicos (JACOBY, 2009; BUSH & JACOBY, 2010).

406 Grande parte das AmpC são codificadas nos cromossomos e, portanto,
407 denominadas constitutivas, apesar de algumas serem induzíveis, ou seja, encontradas em
408 plasmídeos (JACOBY, 2009; MATA, *et al.*, 2012). Nos gêneros da família
409 *Enterobacteriaceae*, as β -lactamases AmpC são frequentemente cromossomais e
410 apresentam baixa taxa de expressão; entretanto, com a exposição frequente aos β -
411 lactâmicos, tornaram-se mais expressivas (BUSH, 2010).

412 A produção de AmpC em baixos níveis pode invalidar a ação antibacteriana das
413 cefalosporinas. Sobretudo se produzida em níveis elevados, outros β -lactâmicos podem ser
414 inativados por estas enzimas. Nesses casos, o aparecimento de AmpC parece ser induzido
415 pela presença de alguns agentes, como a amoxicilina ou o ácido clavulânico, ou mesmo,
416 pela seleção de um mutante estável durante o tratamento com cefalosporinas de espectro
417 ampliado (JACOBY, 2009; BUSH, 2010).

418 A produção de β -lactamase AmpC está associada ao gene constitutivo originado de
419 espécies que atuaram como fonte do gene, por exemplo, as variedades de AmpC CMY-1,
420 CMY-8, CMY-9, CMY-10, CMY-11, e CMY-19 relacionadas com AmpC cromossômica
421 de *Aeromonas* spp. Outras variedades, incluindo a variedade mais comum (CMY-2),
422 derivam da AmpC cromossômica de *Citrobacter freundii* (JACOBY, 2009). Este mesmo
423 autor relata que a produção de AmpC plasmideal ocorre especialmente de forma
424 constitutiva, nas espécies *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* e
425 *Salmonella* spp.

426 **2.3.4. CARBAPENEMASES**

427 Com o aumento frequente da produção de ESBL e AmpC ocorre a diminuição das
428 opções terapêuticas contra os isolados produtores destas enzimas. Desta forma, a última
429 alternativa para o tratamento de infecções causadas por Gram-negativos produtores destas
430 enzimas são os antibióticos carbapenêmicos (WOODFORD et al., 2000).

431 Nordmann, Cuzzon e Naas (2009) apontam como mecanismos relacionados à
432 resistência aos carbapenêmicos à modificação na permeabilidade de membrana e ao
433 aumento na regulação das bombas de efluxo, associados à hiperprodução de AmpC ou
434 ESBL ou a produção de enzimas carbapenemases.

435 Os carbapenêmicos foram, inicialmente, considerados terapia de eleição pela sua
436 estabilidade, espectro de ação, e poucos relatos de resistência, além de serem drogas bem
437 toleradas pelos pacientes, apresentando como efeitos adversos mais comuns complicações
438 no sítio da infusão e toxicidade gastrointestinal (NICOLAU, 2008). Em contrapartida, nas
439 últimas décadas, a resistência a essa classe de antimicrobiano tem crescido de forma
440 proporcional ao seu uso, em resposta adaptativa das bactérias e em algumas vezes como
441 consequência ao uso abusivo e negligente dos mesmos (NETO et al., 2007).

442 O grupo dos antibióticos carbapenêmicos incluem o imipenem, meropenem, o
443 ertapenem e, mais recente descoberto, o doripenem, que combina o espectro de ação do
444 imipenem e meropenem, tendo maior eficácia no tratamento contra infecções por
445 *Pseudomonas aeruginosa* (ZHANEL et al., 2007). O imipenem e o meropenem possuem
446 um amplo espectro de ação *in vitro* contra Gram positivos, Gram negativos e bactérias
447 anaeróbias (ZHANEL et al., 2007; MOHR, 2008). O ertapenem apresenta um espectro de
448 ação mais limitado que os outros componentes desta classe de antimicrobianos (ZHANEL
449 et al., 2007), ficando seu uso restrito a terapia de infecções adquiridas na comunidade.

450

451 **2.4. PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE E A DISSEMINAÇÃO DA** 452 **RESISTÊNCIA BACTERIANA EM CARNE DE FRANGO NO BRASIL**

453 Nos anos de 1950, a criação de aves era basicamente uma atividade desenvolvida
454 para subsistência. Entre 1960 e 1980 iniciou-se a integração entre os criadores de frango e
455 as agroindústrias, de forma a aperfeiçoar o processo, desde a criação ao abate e
456 comercialização do frango (VASCONCELOS et al., 2015).

457 Atualmente, o Brasil se destaca na exportação da carne de frangos, sendo há 10
458 anos o maior exportador do mundo deste produto, destinando a produção para mais de 150

459 países (PORTAL BRASIL, 2015). Em 2015, as exportações superaram a marca de 4,3
460 milhões de toneladas. No mesmo ano, em consequência do aumento do preço da carne
461 bovina nos supermercados, a carne de frango ampliou sua liderança como a mais consumida
462 pelos brasileiros, atingindo média per capita de 43,2 quilos, colocando o país como segundo
463 maior produtor de carne de aves do mundo (ABPA, 2015).

464 No início da avicultura industrial, o uso de antimicrobianos era feito com a
465 finalidade de evitar enfermidades e, algum tempo depois, passou a ser utilizado como
466 promotor de crescimento. Independente da intenção de uso (terapêutica, profilática ou
467 como promotores de crescimento), a utilização de antibióticos na produção pecuária é
468 motivo de grande preocupação, pois estimula a resistência da população bacteriana
469 (MENDES et al., 2013). Todos esses fatores indicam a necessidade de maiores
470 conhecimentos sobre a ocorrência de genes de resistência na microbiota encontrada na
471 carne de frango, pois, como alimento comum, alguns microrganismos presentes na carne
472 de frango podem atuar como reservatórios de genes de resistência. Algumas pesquisas
473 realizadas destacam a presença de genes que codificam resistência a vários
474 antimicrobianos de importância clínica (β -lactâmicos, Quinolonas, Tetraciclina, entre
475 outros) em carne de frangos (GAROFALO et al., 2007; LAUBE et al., 2013; OLESEN et
476 al., 2005; DHANJI et al., 2010; RANDALL et al., 2011).

477 O fato de que antibióticos e quimioterápicos estarem sendo administrados, há mais
478 de 30 anos, em baixas concentrações na criação de aves para favorecer significativamente
479 o ganho de peso e a conversão alimentar dos animais, pode estar relacionado à
480 disseminação de microrganismos resistentes que impactem a saúde pública (SANTOS,
481 2012).

482 O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o órgão
483 responsável pela regulamentação e fiscalização dos produtos utilizados na alimentação
484 animal. Através das Instruções Normativas n° 09/2003 e n° 26/2009 (BRASIL, 2003;
485 BRASIL, 2009), regulamenta procedimentos técnicos para a fabricação, controle de
486 qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário.
487 Nestas Instruções Normativas, o uso de cloranfenicol, nitrofuranos, alfenicóis,
488 tetraciclina, β -lactâmicos (bezilpenicilinas e cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas
489 sistêmicas são de uso específico na terapêutica veterinária, sendo vedada a sua utilização
490 como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho ou como conservantes de
491 alimentos para animais.

492 Alguns estudos foram realizados com o objetivo de levantar informações sobre
493 resistência antimicrobiana em bactérias encontradas em carne de frango (MAIA et al.,
494 2009; ABREU et al., 2010; BARROS et al, 2012). Warren et al. (2008) observaram o gene
495 bla_{CTX-M} em amostras de carne de frango importadas do Brasil para o Reino Unido.

496 Pesquisas sobre a produção de β-lactamases de espectro ampliado na criação de
497 aves para produção são crescentes internacionalmente (DHANJI et al., 2010; DIERIKX et
498 al., 2012; LAUBE et al., 2013; BORJESSON et al., 2013; TRONGJIT,
499 ANGKITTITRAKUL & CHUANCHUEN, 2016). No Brasil, as pesquisas são voltadas
500 para detecção de genes de resistência em infecções hospitalares (MANA et al., 2014;
501 KAISER et al., 2016) ficando a necessidade de realização desses estudos para a criação
502 animal, principalmente para a criação de aves, uma vez que o país está entre os maiores
503 produtores de carne de frangos.

504

505

506

507

508

509

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

520

521

522

523

524 **4. MATERIAL E MÉTODOS**

525

526 **4.1. Lavagem das carcaças de frangos**

527 Em função da disponibilidade, frangos inteiros *in natura*, resfriados e congelados
528 foram adquiridas de estabelecimentos comerciais das cidades de João Pessoa, Areia e
529 Campina Grande, no Estado da Paraíba. As amostras foram acondicionadas em sacolas
530 térmicas e encaminhadas ao Laboratório de Produtos de Origem Animal (LAPOA) no
531 Campus II da Universidade Federal da Paraíba, na cidade de Areia. As carcaças *in natura* e
532 resfriadas foram lavadas imediatamente à chegada no local. Carcaças congeladas, em suas
533 embalagens originais, foram descongeladas em temperatura média de 4°C, em refrigerador,
534 por 24h. A técnica de lavagem foi realizada utilizando-se metodologia recomendada pelo
535 Georgia Poultry Laboratory (1997) e Brasil (2003) com modificações. Empregou-se 400
536 mL de água peptonada tamponada (Acumedia®, EUA), vertidos em embalagem plástica
537 previamente esterilizadas e contendo a carcaça. Posteriormente, foi realizada agitação
538 manual vigorosa por aproximadamente um minuto, para que a solução de água peptonada
539 percorresse todo o interior e exterior da carcaça. A partir deste procedimento, 30 mL do
540 lavado foram transferidos para um recipiente e incubados em estufa bacteriológica à 37 ± 2
541 °C, durante 8 horas.

542

543 **4.2. Isolamento e identificação fenotípica das enterobactérias**

544 Após o período de 8 horas de incubação do lavado, uma alíquota de 20 µL do
545 material foi transferida para um tubo contendo 3 mL de caldo infusão cérebro coração
546 (Bacto®, EUA) suplementado com ceftriaxona (1mg/L) e incubados em estufa
547 bacteriológica à 37 ± 2 °C por um período de 12 horas.

548 Para o isolamento, foi realizado plaqueamento por esgotamento em ágar
549 MacConkey (Difco®, EUA) e as placas colocadas em estufa bacteriológica à 37 ± 2 °C
550 durante 24 horas. Após o período de incubação, procedeu-se com o reisolamento das
551 colônias em placas contendo ágar Tripton Soja (Himedia®, Índia) para identificação do
552 gênero através de visualização microscópica e provas bioquímicas.

553 As provas bioquímicas foram realizadas no Núcleo de Medicina Tropical
554 (NUMETROP), localizado no Campus I da Universidade Federal da Paraíba. Para a
555 realização das mesmas foram utilizados o ágar tríplice açúcar ferro (TSI), meio de ureia de
556 Christensen, mobilidade/indol/ornitina (MIO), ágar lisina ferro (LIA), citrato de Simmons
557 e desaminação da fenilalanina. Os mecanismos de identificação de cada uma das provas

558 utilizadas são apresentados na Tabela 1. Sabe-se que este esquema de identificação é capaz
 559 de identificar 90% das enterobactérias (SANTOS FILHO, 2006).

560

561 **Tabela 1:** Apresentação dos meios utilizados nas provas bioquímicas e seu funcionamento
 562 para identificação genérica de microrganismos.

| Meios de cultivo | Funcionamento do meio | | |
|------------------|--|--|---|
| TSI | Base | Produção de gás | Formação de bolhas |
| | | Produção de H ₂ S | Presença de pigmento preto em qualquer intensidade |
| | | Fermentação da Glicose | Coloração amarela reação positiva; Coloração do meio inalterada reação negativa. |
| | Superfície | Fermentação da Lactose | Coloração amarela reação positiva; Coloração inalterada reação negativa. |
| UREIA | Hidrólise da Ureia | Coloração amarelo alaranjada reação positiva; Coloração rosa avermelhada reação negativa. | |
| MIO | Motilidade | Turbidez do meio além da linha de inoculação reação positiva; Crescimento somente na linha de inoculação reação negativa. | |
| | Produção de Indol (Reativo de Kovacs) | Aparecimento de cor rosa – vermelha reação positiva; Inalteração da cor original (amarela) reação negativa. | |
| | Produção de Ornitina Descarboxilase | Coloração amarela a partir do fundo do tubo reação negativa; Coloração inalterada (púrpura) reação positiva. | |
| LIA | Produção de Lisina Descarboxilase | Coloração inalterada (púrpura) reação positiva; Coloração amarela a partir do fundo do tubo reação negativa. | |
| Citrato | Coloração azul intensa na superfície reação positiva; Coloração inalterada (verde) reação negativa. | | |
| Fenilalanina | Teste específico na detecção dos gêneros Morganella, Providencia e Proteus, pois somente eles possuem enzimas capazes de desaminar a fenilalanina em ácido fenil pirúvico, que é detectada pela adição de cloreto férrico a 10%. | | |

563 Fonte: adaptado de Santos Filho, 2006.

564

565 4.3. Avaliação da susceptibilidade antimicrobiana *in vitro*

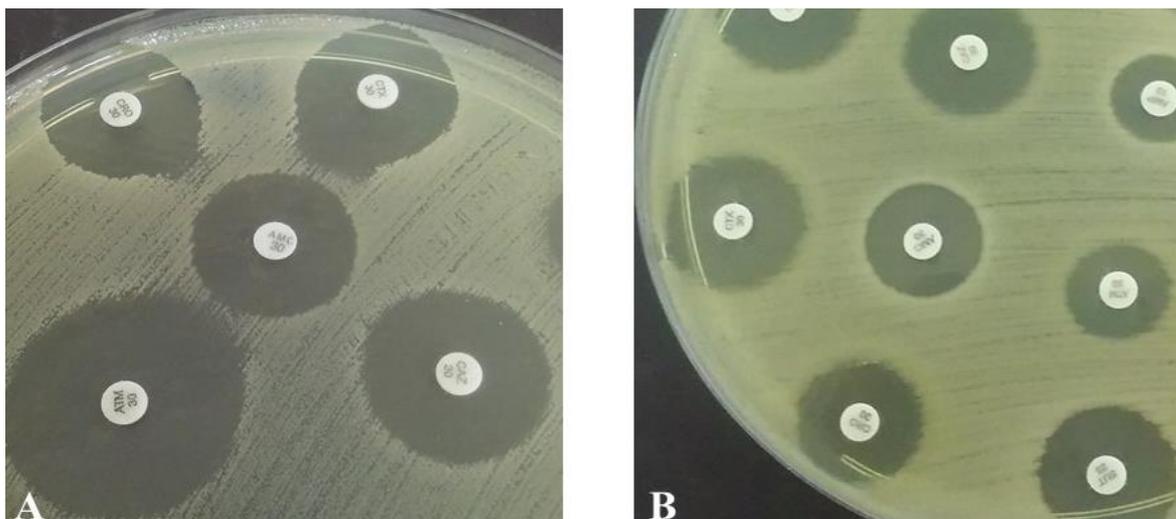
566 Os testes de detecção fenotípica de resistência, assim como a triagem de cepas
 567 produtoras de ESBL, foram executados conforme as recomendações do *Clinical and*
 568 *Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015), pelo método de Disco-difusão (Kirby-

569 Bauer). De início, as culturas foram semeadas em placas de ágar MacConkey, de modo que
570 fossem obtidas colônias isoladas, e incubadas em estufa bacteriológica à 37 ± 2 °C. Após
571 24h de incubação, 2 a 3 colônias do cultivo foram ressuspensas em soro fisiológico
572 estéril (NaCl 0,9%) em tubo, de forma a obter uma suspensão com turvação equivalente a
573 0,5 na escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). A confirmação da turbidez foi mensurada
574 com o auxílio de um turbidímetro. Em seguida, um suabe estéril foi imerso na suspensão
575 bacteriana, eliminando-se o excesso do inóculo por meio de uma compressão do mesmo na
576 parede do tubo. Em placas de Petri, com dimensões 140x15 mm, contendo ágar Mueller
577 Hinton (Difco®, EUA), foram semeadas por estriamento ao longo de três planos distintos
578 (rotações de 60°) em toda a superfície do ágar de modo a obter um crescimento uniforme.
579 Com espera de aproximadamente 5 minutos para eficaz absorção do inóculo no ágar,
580 procedeu-se a aplicação dos discos de antimicrobianos com distribuição dos mesmos a uma
581 distância de 24 mm os mesmos.

582 Foram utilizados discos com os seguintes antimicrobianos: amoxicilina + ácido
583 Clavulânico (AMC – 30 mcg), Ampicilina (AMP – 10 mcg), Aztreonam (ATM – 30 mcg),
584 Cefotaxima (CTX – 30 mcg), Ceftazidima (CAZ – 30 mcg), Ceftriaxona (CRO – 30 mcg),
585 Ciprofloxacina (CIP – 5 mcg), Cloranfenicol (CLO – 30 mcg), Gentamicina (GEN – 10
586 mcg), Norfloxacin (NOR – 10 mcg), Sulfametazol + Trimetropina (SUT – 25 mcg),
587 Tetraciclina (TET – 30 mcg) (SENSIFAR®).

588 Como teste confirmatório para detecção de cepas produtoras de ESBL, foi utilizado
589 o método de aproximação de discos com adição de um disco com ácido clavulânico
590 circuncêntrico aos discos contendo aztreonam e as cefalosporinas de terceira geração. Foi
591 considerado resultado positivo ao teste quando ocorreu aumento do diâmetro do halo de
592 inibição ou o aparecimento da zona fantasma (distorção do halo ao redor do disco β -
593 lactâmico), conforme recomendação do CLSI (2015).

594



595

596 **Figura 2:** Teste de aproximação de discos para detecção de ESBL. (A) combinação dos
 597 discos para detecção de ESBL e presença do halo fantasma; (B) combinação dos discos
 598 sem a presença do halo fantasma.

599 Por fim, as placas foram incubadas à 37 ± 2 °C por um período de 24h e foram
 600 realizadas as leituras dos halos de inibição formados em cada antimicrobiano avaliado e
 601 comparados os resultados obtidos aos padrões descritos pelo CLSI (2015), conforme
 602 descrito na Tabela 2. Como controle positivo foi utilizada a cepa *Klebsiella pneumoniae*
 603 ATCC 700603 e como controle negativo a cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

604 **Tabela 2:** Padrão para interpretação dos halos de inibição dos antimicrobianos utilizados.
 Antimicrobiano

| Antimicrobiano | Halo de inibição (mm) | | |
|----------------|-----------------------|---------------|------------|
| | Sensível | Intermediário | Resistente |
| AMC | ≥ 18 | 14 – 17 | ≤ 13 |
| AMP | ≥ 17 | 14 – 16 | ≤ 13 |
| ATM | ≥ 21 | 18 – 20 | ≤ 17 |
| CAZ | ≥ 21 | 18 – 20 | ≤ 17 |
| CIP | ≥ 21 | 16 – 20 | ≤ 15 |
| CLO | ≥ 18 | 13 – 17 | ≤ 12 |
| CRO | ≥ 23 | 20 – 22 | ≤ 19 |
| CTX | ≥ 26 | 23 – 25 | ≤ 22 |
| GEN | ≥ 15 | 13 – 14 | ≤ 12 |
| NOR | ≥ 17 | 13 – 16 | ≤ 12 |
| TET | ≥ 15 | 12 – 14 | ≤ 11 |
| SUT | ≥ 16 | 11 – 15 | ≤ 10 |

605 Fonte: CLSI (2015).

606 AMC – amoxicilina-ácido clavulânico; CAZ – ceftazidima; CTX – cefotaxima; CRO – ceftriaxona; CIP –
 607 ciprofloxacina; NOR – Norfloxacin; ATM – aztreonam; SUT – sufametazol + trimetropim; TET –
 608 tetraciclina; GEN – gentamicina; CLO – cloranfenicol; AMP – ampicilina.

609 **4.4. Detecção de carbapenemases**

610 O teste para detecção de carbapenemases foi realizado com as bactérias
611 multirresistentes identificadas no teste de susceptibilidade antimicrobiana *in vitro*.

612 As cepas foram semeadas em placas de Petri descartáveis contendo ágar Muller
613 Hinton (Difco®, EUA) e incubadas a 37 ± 2 °C por um período de 20 a 24 horas. Após o
614 período de incubação, 2 a 3 colônias do cultivo foram ressuspendidas em tubos contendo
615 soro fisiológico estéril (NaCl 0,9%), de forma a obter uma suspensão com turvação
616 equivalente a 0,5 na escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). A confirmação da turbidez
617 foi realizada com o auxílio de um turbidímetro. Em seguida, um suabe estéril foi imerso na
618 suspensão bacteriana, eliminando-se o excesso do inóculo por meio de uma compressão do
619 mesmo na parede do tubo. Em placas de Petri, com dimensões 90x15 mm, de ágar Mueller
620 Hinton (Difco®, EUA), foram semeadas por estriamento ao longo de três planos distintos
621 (rotações de 60°) em toda a superfície do ágar de modo a obter um crescimento uniforme.
622 Após espera de aproximadamente 5 minutos, para garantir a eficaz absorção do inóculo no
623 ágar, procedeu-se à aplicação dos discos de antimicrobianos.

624 Na realização deste teste, os discos de antimicrobianos utilizados foram:
625 Cefotaxima (CTX – 30 mcg), Ceftazidima (CAZ – 30 mcg), Ceftriaxona (CRO – 30 mcg),
626 Meropenem (MER – 30 mcg), Imipenem (IPM – 10 mcg) e Ertapenem (ERT – 10 mcg)
627 (SENSIFAR®).

628 Para finalização do teste e obtenção dos resultados, as placas foram incubadas a 37
629 ± 2 °C por 24 horas e foi realizada a leitura dos halos de inibição formado para cada
630 antimicrobiano analisado e comparando-os aos padrões descritos pelo CLSI (2015).

631 **Tabela 3:** Padrão para interpretação dos halos de inibição às carbapenemas.

| Antimicrobiano | Halo de inibição (mm) | | |
|----------------|-----------------------|---------|-----------|
| | S | I | R |
| CTX | ≥ 26 | 23 – 25 | ≤ 22 |
| CAZ | ≥ 21 | 18 – 20 | ≤ 17 |
| CRO | ≥ 23 | 20 – 22 | ≤ 19 |
| MER | ≥ 23 | 20 – 22 | ≤ 19 |
| IPM | ≥ 23 | 20 – 22 | ≤ 19 |
| ERT | ≥ 22 | 19 – 21 | ≤ 18 |

632 Fonte: CLSI (2015).

633 CTX – cefotaxima; CAZ – ceftazidima; CRO – ceftriaxona; MER – meropenem; IPM – imipenem; ERT –
634 ertapenem.

635

636 **4.5. Análise dos dados**

637 Os resultados observados nas provas bioquímicas para identificação do gênero
638 foram tabulados e submetidos à distribuição de frequência em uma análise estatística
639 descritiva, com o uso de planilha eletrônica (Microsoft Excel®).

640 As frequências de resistência para cada droga entre os gêneros identificados foram
641 comparadas pelo teste de qui-quadrado (χ^2) usando o programa SAS, versão 9.2 Um valor
642 de $P < 0,05$ foi considerado significativo. Neste estudo, as cepas com suscetibilidade
643 intermediária foram categorizadas como resistentes na análise estatística.

644 Para avaliar possíveis associações na ocorrência de resistência a diferentes
645 antibióticos, dentro de um mesmo gênero, foi realizado teste exato de Fisher ($P < 0,05$) pelo
646 aplicativo Social Science Statistic (STANGROOM, 2017). Este teste foi realizado somente
647 para os gêneros de maior prevalência (*E. coli*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*).

648

649

650

651

652

653

654

655

656

657

658

659

660

661

662

663

664

665

666

667 **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

668 Do total de 50 carcaças analisadas, 28 (56%) foram *in natura*, 20 (40%)
669 congeladas, e apenas 2 (4%) resfriadas. Este número variou devido à disponibilidade do
670 produto no local de aquisição, da diversidade de marcas comerciais disponíveis e, no caso
671 específico das carcaças *in natura*, dos locais escolhidos, que abatiam frangos diariamente.

672 Nas três classes de carcaças estudadas (*in natura*, resfriada e congelada) foram
673 encontrados membros da família Enterobacteriaceae, sendo observado uma média de 3
674 bactérias, diferentes morfologicamente, em cada placa, totalizando 151 isolados. A Tabela
675 4 apresenta as frequências absolutas e relativas dos gêneros de maior ocorrência:
676 *Escherichia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Salmonella spp.* Outras 12 cepas
677 incluíram *Enterobacter spp.*, *Hafnia spp.*, *Proteus spp.*, *Shigella spp.*, *Serratia spp* e
678 bactérias não identificáveis.

679 **Tabela 4:** Frequências absoluta e relativa de enterobactérias em carcaças de frango
680 comercializados no Estado da Paraíba.

| Gênero | N (%) |
|-------------------------|-----------|
| <i>Escherichia spp.</i> | 53 (35,1) |
| <i>Klebsiella spp.</i> | 50 (33,1) |
| <i>Pseudomonas spp.</i> | 32 (21,2) |
| <i>Salmonella spp.</i> | 04 (02,6) |
| Outros | 12 (07,9) |

681

682 A Tabela 5 mostra os resultados do teste de susceptibilidade *in vitro* pelo método
683 de disco-difusão (Kirby-Bauer) utilizados para triar cepas potencialmente produtoras de
684 ESBL.

685

686

687

688

689

690

691

692

693

694 **Tabela 5:** Frequências absoluta e frequência relativa de bactérias resistentes a diferentes
 695 classes de antimicrobianos pelo teste de disco-difusão.

| Frequência absoluta (N) e frequência relativa (%) | | | | | | |
|---|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|------------|---------|
| | <i>Escherichia</i> spp. | <i>Klebsiella</i> spp. | <i>Pseudomonas</i> spp. | <i>Salmonella</i> spp. | Outros | P-valor |
| Inibidor de β-lactamase | | | | | | |
| AMC | 19 (35,85) | 17 (34,00) | 9 (28,13) | 4 (100,00) | 7 (58,33) | 0,0335 |
| β-lactâmicos | | | | | | |
| CAZ | 23 (43,40) | 23 (46,00) | 1 (3,13) | 4 (100,00) | 6 (50,00) | <0,0001 |
| CTX | 50 (94,34) | 47 (94,00) | 24 (75,00) | 1 (25,00) | 11 (91,67) | <0,0001 |
| CRO | 46 (86,79) | 46 (92,00) | 19 (59,38) | 0 (0,00) | 8 (66,67) | <0,0001 |
| AMP | 53 (100,00) | 49 (98,00) | 22 (68,75) | 4 (100,00) | 11 (91,67) | <0,0001 |
| Fluorquinolona | | | | | | |
| CIP | 26 (49,06) | 25 (50,00) | 4 (12,50) | 0 (0,00) | 7 (58,33) | 0,0012 |
| NOR | 29 (54,72) | 26 (52,00) | 9 (28,13) | 0 (0,00) | 7 (58,33) | 0,0326 |
| Monobactâmico | | | | | | |
| ATM | 16 (30,19) | 18 (36,00) | 18 (56,25) | 0 (0,00) | 4 (33,33) | 0,0727 |
| Sulfa +Trimetropim | | | | | | |
| SUT | 22 (41,51) | 36 (72,00) | 10 (31,25) | 0 (0,00) | 4 (33,33) | 0,0004 |
| Tetraciclina | | | | | | |
| TET | 32 (60,38) | 38 (76,00) | 4 (12,50) | 3 (75,00) | 6 (50,00) | <0,0001 |
| Aminoglicosídeos | | | | | | |
| GEN | 18 (33,96) | 14 (28,00) | 1 (3,13) | 0 (0,00) | 4 (33,33) | 0,0134 |
| Fenicol | | | | | | |
| CLO | 17 (32,08) | 18 (36,00) | 15 (46,88) | 0 (0,00) | 6 (50,00) | 0,1293 |
| TOTAL | 53 | 50 | 32 | 4 | 12 | |

696 AMC – amoxicilina-ácido clavulânico; CAZ – ceftazidima; CTX – cefotaxima; CRO – ceftriaxona; CIP –
 697 ciprofloxacina; NOR – Norfloxacin; ATM – aztreonam; SUT – sulfametazol + trimetropim; TET –
 698 tetraciclina; GEN – gentamicina; CLO – cloranfenicol; AMP – ampicilina.

699 Para o gênero *Escherichia* spp., os maiores percentuais de resistência foram
 700 observados para ampicilina, (100%), cefotaxima (94,34%) e ceftriaxona (86,79%). A
 701 resistência à ceftazidima, também pertencente ao grupo das cefalosporinas de terceira
 702 geração foi mais baixa (43,40%) em comparação aos outros antimicrobianos. Para as
 703 outras classes de antimicrobianos testados, com exceção da norfloxacin e da tetraciclina,
 704 as frequências de resistência foram inferiores a 50%.

705 Para o gênero *Klebsiella* spp., os resultados se apresentaram semelhantes ao do
 706 gênero *Escherichia* spp. Maior percentual de resistência foi observado para ampicilina
 707 (98%), cefotaxima (96%) e ceftriaxona (94%). Resistência a ceftazidima foi observada em

708 46%. Frequências elevadas de resistência foram observadas para Tetraciclina (76%) e
709 sulfametazol/trimetropim (72%). As fluorquinolonas testadas, norfloxacin e
710 ciprofloxacina, apresentaram resultado semelhante (52 e 50%, respectivamente). Os outros
711 antimicrobianos testados exibiram resistência inferior a 50% para o gênero em questão.

712 Para o gênero *Pseudomonas* spp., a resistência aos tipos de antimicrobianos foi
713 semelhante ao dos gêneros *Escherichia* spp. e *Klebsiella* spp. A ampicilina apresentou
714 maior percentual de resistência para o gênero, 68,75%. No grupo das cefalosporinas,
715 cefotaxima e ceftriaxona exibiram 75 e 59,38% de resistência respectivamente, entretanto,
716 a ceftazidima exibiu apenas 3,13%. O aztreonam, do grupo dos monobactâmicos
717 apresentou resultado maior que 50% (56,25%), diferente dos outros gêneros identificados
718 que apresentaram resultado inferior a 50% no presente estudo. Para outros agentes
719 antimicrobianos testados os resultados se apresentaram inferiores a 50%.

720 Não foi detectada resistência antimicrobiana em *Salmonella* spp. à ceftriaxona,
721 ciprofloxacina, norfloxacin, aztreonam, sulfametazol/trimetropim, gentamicina e
722 cloranfenicol. No entanto, todas as cepas de *Salmonella* foram resistentes a
723 amoxicilina/ácido clavulânico, ceftazidima e ampicilina (100%). As frequências de
724 resistência a tetraciclina e cefotaxima foram 75 e 25%, respectivamente.

725 Outras enterobactérias identificadas em menor número, como os gêneros *Proteus*
726 spp., *Enterobacter* spp., *Shigella* spp., entre outros, apresentaram maior resistência a
727 ampicilina (91,67%), e cefotaxima (91,67%), ceftriaxona (66,67%). Menor resistência foi
728 observada para ceftazidima (50%), Resistência a Ampicilina/ácido clavulânico,
729 ciprofloxacina e norfloxacin foi observada em 58,33% das cepas, enquanto a resistência
730 ao cloranfenicol e tetraciclina foi de 50%. Percentual inferior a 50% foram resistentes a
731 sulfametazol/trimetropim, gentamicina e aztreonam.

732 Houve diferença significativa ($P < 0,05$) na frequência de resistência entre os
733 gêneros identificados para a maioria dos antimicrobianos (Tabela 5) exceto para aztreonam
734 e cloranfenicol.

735 Os gêneros que apresentaram maior prevalência entre as bactérias isoladas neste
736 estudo foram *Escherichia* spp. (35,10%) e *Klebsiella* spp. (33,11%). Todas as cepas
737 apresentaram-se resistentes a pelo menos um dos β -lactâmicos utilizados na triagem e,
738 portanto, foram submetidas ao teste confirmatório de disco aproximação. A suplementação
739 com ceftriaxona (1mg/L) no caldo utilizado no cultivo inicial contribuiu certamente para a
740 ausência de cepas susceptíveis a todos os β -lactâmicos utilizados no teste de disco-difusão.

741 A Tabela 6 apresenta, para cada um dos gêneros, o número de cepas confirmadas
 742 para produção de ESBL pelo teste de aproximação ao disco de amoxicilina/ácido
 743 clavulânico, assim como as frequências de positividade relativamente aos antimicrobianos
 744 utilizados. Um total de 24 (15.9%) cepas apresentaram a formação de zona fantasma que as
 745 caracteriza como produtoras de ESBL. Dentre as cepas positivas, foram identificadas 15
 746 (30,0%) *Klebsiella* spp., 7 (13.20%) *E. coli*, 1 (3,2%) *Pseudomonas* spp. e 1 *Shigella* spp.

747 **Tabela 6:** Cepas positivas para o teste fenotípico confirmatório de produção de β -
 748 lactamase de espectro ampliado de acordo com o gênero e presença de halo para fantasma
 749 para cada antimicrobiano utilizado.

| Antimicrobianos utilizados como teste confirmatório pelo método de aproximação ao disco de amoxicilina/ácido clavulânico | | | | | |
|---|------------|------------|------------|------------|------------------------|
| Gêneros | ATM | CTX | CRO | CAZ | Número de cepas |
| <i>Escherichia</i> spp. | 4 | 7 | 5 | 0 | 7 |
| <i>Klebsiella</i> spp. | 9 | 11 | 5 | 0 | 15 |
| <i>Pseudomonas</i> spp. | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Outros</i> | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| TOTAL | | | | | 24 |

750 ATM – aztreonam; CTX – cefoxitina; CRO – ceftriaxona; CAZ – ceftazidima.

751 Oito cepas, sendo quatro *Klebsiella* spp. e quatro *Escherichia* spp., apresentaram
 752 formação de zona fantasma para ceftriaxona, cefotaxima e aztreonam.

753 No presente estudo, os antimicrobianos cefotaxima (CTX) e ceftriaxona (CRO)
 754 foram sensíveis na identificação de cepas produtoras de ESBL, em comparação ao
 755 percentual de resistência à ceftazidima.

756 A Tabela 7 apresenta os dados do teste exato de Fisher para a associação de
 757 resistência às cefalosporinas utilizadas no teste confirmatório de aproximação ao disco de
 758 ao disco de amoxicilina/ácido clavulânico. Para *Escherichia* spp., houve associação positiva
 759 ($P < 0,05$) na ocorrência de resistência entre CTX – CRO; AMC – CTX e AMC – CAZ.
 760 Para *Klebsiella* spp., houve associação positiva para CTX – CRO e AMC – CAZ. E para
 761 *Pseudomonas* spp., as associações que se apresentaram significativas foram CTX – CRO e
 762 AMC – CRO.

763
 764
 765

766 **Tabela 7:** Probabilidade de associação entre as cefalosporinas de terceira geração e o
 767 inibidor de β -lactamases avaliados no presente estudo (Teste Exato de Fisher).

| Antimicrobianos | Valor de P | | |
|------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| | <i>Escherichia spp.</i> | <i>Klebsiella spp.</i> | <i>Pseudomonas spp.</i> |
| CTX – CRO | 0,0015 | 0,0002 | 0,0001 |
| CAZ – CTX | 0,1836 | 1,0000 | 1,0000 |
| CAZ – CRO | 0,2180 | 0,6507 | 1,0000 |
| AMC – CTX | 0,0414 | 0,2637 | 0,6808 |
| AMC – CRO | 0,0835 | 0,1078 | 0,0146 |
| AMC – CAZ | 0,0000 | 0,0028 | 1,0000 |

768 CTX – cefotaxima; CRO – ceftriaxona; CAZ – ceftazidima; AMC – amoxicilina-ácido clavulânico. $P < 0,05$.

769 A associação entre as cefalosporinas avaliadas cefotaxima e ceftriaxona (CTX –
 770 CRO) foi significativa para os três gêneros. Apesar dos resultados do presente estudo
 771 indicarem maior sensibilidade de CTX e CRO na detecção de enterobactérias produtoras
 772 de ESBL em carcaças de frango, a utilização paralela de CTX e CRO pode ser redundante,
 773 preferindo-se o emprego de outras drogas para maior confiabilidade no resultado de
 774 detecção de ESBL. A utilização de ceftazidima e cefpodoxima é recomendada pelo CLSI
 775 (2010)

776 Luzzaro et al. (2006); Asensio et al. (2011); Rodrigues & Mesquita (2016) e Kaiser
 777 et al. (2016) relataram, em seus respectivos trabalhos, maior frequência de *Escherichia coli*
 778 produtora de ESBL a partir de amostras de origem hospitalar. Outros autores também
 779 apontaram que *E coli* e *K. pneumoniae* como as espécies mais comumente identificadas
 780 como produtoras de ESBL (COSTA, 2013; GRALHA, 2011; MANA, 2014).

781 Queiroz et al. (2012) apontam que inúmeros estudos têm identificado a produção da
 782 enzima ESBL como um dos mecanismos mais importantes de resistência bacteriana em
 783 Gram-negativos no mundo todo. O aparecimento deste mecanismo em vários
 784 representantes da família *Enterobacteriaceae*, principalmente em *Klebsiella pneumoniae* e
 785 *Escherichia coli*, tanto em ambiente hospitalar quanto na comunidade, vem causando
 786 graves problemas de saúde pública (AMBLER & MEADWAY, 1969; FALAGAS &
 787 KARAGEORGOPOULOS, 2009). A produção de ESBL em bactérias Gram-negativas
 788 não fermentadoras de lactose como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*
 789 também estão sendo relatados na literatura (JACOBY & MUNOZ-PRICE, 2005). Este
 790 aumento de resistência em bactérias Gram-negativas pode ser explicado pela presença de
 791 genes móveis em plasmídeos que se disseminam facilmente e ao uso de antimicrobianos

792 (FALAGAS & KARAGEORGOPOULOS, 2009; LEWIS II et al., 2007; DRIEUX et al.,
793 2008, NICHOLAS-CHANOINE & JARLIER, 2008).

794 O fenômeno da multirresistência foi observado em 135 cepas identificadas no
795 estudo, do total de 151 amostras. De 135 cepas que apresentaram multirresistência, 47
796 (88,68%) foram *Escherichia* spp., 48 (96%) *Klebsiella* spp., 25 (78,13%) *Pseudomonas*
797 spp. e 3 (75%) *Salmonella* spp. Para os outros gêneros identificados, 100% das cepas
798 foram multirresistentes. Diferentes perfis de multiresistência foram encontrados, sendo 40
799 (32,79%) diferentes perfis para o gênero *Escherichia*, 41 (34,43%) para o gênero
800 *Klebsiella*, 26 (21,31%) para o gênero *Pseudomonas*, 3 (2,46%) para o gênero *Salmonella*
801 e 12 (9,84%) para os gêneros de menor frequência no estudo em questão, totalizando 122
802 (80,79%) perfis diferentes em um total de 151 isolados identificados de gêneros distintos.

803 Para o gênero *Escherichia* spp., os perfis que apresentaram maior frequência foram:
804 AmcCazCtxCroAmp, CtxCroAmp e CtxCroAmpCipNorSutTetClo, com três cepas cada.
805 Os perfis encontrados no gênero *Klebsiella* spp. foram AmcCazCtxCroAmpSutTet;
806 CazCtxCroAmpAtmSutTetClo, com quatro cepas cada. Para o gênero *Pseudomonas* spp.,
807 o perfil de maior frequência, observado em três cepas, foi CtxCroAmpAtm.

808 A Tabela 8 revela os resultados de detecção de carbapenemase. O gênero
809 *Pseudomonas* spp. foi aquele com maior frequência para produção de carbapenemases,
810 principalmente para o ertapenem. Isto significa que esta classe de antimicrobianos
811 apresenta, ainda, maior eficácia para o tratamento de infecções mais graves. Por outro lado,
812 a detecção de enterobactérias resistentes a carbapenemases em carcaças de frango é
813 preocupante.

814 **Tabela 8:** Frequência absoluta e frequência relativa de bactérias produtoras de
815 carbapenemases em carcaças inteiras de frango comercializadas no Estado da Paraíba.

| Resistência a carbapenêmicos N (%) | | | | | |
|------------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|----------|
| Antimicrobiano | <i>Escherichia</i> spp. | <i>Klebsiella</i> spp. | <i>Pseudomonas</i> spp. | <i>Salmonella</i> spp. | Outros |
| MER | 0 (0,00) | 0 (0,00) | 1 (3,57) | 0 (0,00) | 0 (0,00) |
| IPM | 0 (0,00) | 0 (0,00) | 0 (0,00) | 0 (0,00) | 0 (0,00) |
| ERT | 2 (3,77) | 1 (2,00) | 17 (60,71) | 0 (0,00) | 0 (0,00) |

816 MER – Meropenem; IPM – Imipenem; ERT – Ertapenem.

817

818

819 **6. CONCLUSÕES**

820 A identificação de enterobactérias, principalmente *E. coli* e *Klebsiella* spp,
821 produtoras de β -lactâmicos de espectro ampliado (ESBL) em carcaças de frango, *in natura*,
822 congeladas ou resfriadas, comercializadas em diferentes cidades do Estado da Paraíba,
823 justifica a necessidade de estudos amplos sobre o seu real impacto em saúde pública.
824 Maior sensibilidade na confirmação fenotípica de produção de ESBL foi observada quando
825 da utilização dos antibióticos cefotaxima e ceftriaxona no teste confirmatório de
826 aproximação ao disco de amoxicilina/ácido clavulânico. Observa-se, porém associação
827 positiva significativa entre os resultados obtidos por essas drogas, o que sugere a inclusão
828 de outros antimicrobianos nos testes confirmatórios. A contaminação por *Pseudomonas*
829 spp resistentes às carbapenêmicos, principalmente ertapenem, é preocupante e reforça a
830 necessidade de investigar os fatores associados à ocorrência e o impacto dessas bactérias
831 em carcaças de frango comercializadas na Paraíba.

832

833

834

835

836

837

838

839

840

841

842

843

844

845

846

847

848

849

850

851

852 **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 853 ABPA (Associação brasileira de proteína animal) - Estatística. 2015. Disponível em:
854 <[http://www.abpa-br.com.br/noticia/producao-de-carne-de-frango-totaliza-13146-milhoes-](http://www.abpa-br.com.br/noticia/producao-de-carne-de-frango-totaliza-13146-milhoes-de-toneladas-em-2015-1545)
855 [de-toneladas-em-2015-1545](http://www.abpa-br.com.br/noticia/producao-de-carne-de-frango-totaliza-13146-milhoes-de-toneladas-em-2015-1545)>. Acesso em: 15 mar. 2016.
- 856 ABRAHAM, E. P.; CHAIN, E. An enzyme from bacteria able to destroy Penicillin.
857 **Nature**. v. 146. p. 837. 1940.
- 858 AMBLER, R. P. The Structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal*
859 *Society B*. p. 289:321. 1980.
- 860 AMBLER, R. P.; MEADWAY, R. J. Chemical structure of bacterial penicillinases.
861 **Nature**. v. 222, n. 5188, p. 24-6. 1969.
- 862 ANDRADE, C. L. **Histopatologia e identificação da escherichia coli como agente**
863 **causal da celulite aviária em frangos de corte**. 62 f. [Dissertação de Mestrado em
864 Medicina Veterinária] Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro. 2005.
- 865 ASENSIO, A.; ALVAREZ-ESPEJO, T.; FERNANDEZ-CREHUET, J.; RAMOS, A.;
866 VAQUE-RAFART, J.; BISHOPBERGER, C.; HERNÁNDEZ NAVARRETE, M. J.;
867 CALBO-TORRECILLAS, F.; CAMPAYO, J.; CANTON, R. Trends in yearly prevalence
868 of third-generation cephalosporin and fluoroquinolone resistant Enterobacteriaceae
869 infections and antimicrobial use in Spanish hospitals, Spain, 1999 to 2010.
870 **Eurosurveillance**. v. 16, n. 40, p. 1-9. 2011.
- 871 BERQUO, L. S.; BARROS, A. J. D.; LIMA, R. C., BERTOLDI, A. D. Utilização de
872 medicamentos para tratamento de infecções respiratórias na comunidade. **Revista de**
873 **Saúde Pública**, v.38, n.3, p. 358-364. 2004.
- 874 BOPP, C. A.; BRENNER, F. W.; FIELDS, P. I.; WELLS, J. G. STROCKBINE, N. A.
875 Escherichia, Shigella, and Salmonella. In: Murray, P. R.; Baron, E. J. O.; Jorgensen, J. H.;
876 Pfaller, M. A.; Tenover, R. C. (eds). *Manual of clinical Microbiology*. 8 (ed). v. 1. p. 654-
877 671. 2003.
- 878 BORJESSON, S; EGERVAN, M.; LINDBLAD, M.; ENGLUND, S. Frequent Occurrence
879 of Extended-Spectrum Beta-Lactamase- and Transferable AmpC Beta-Lactamase-
880 Producing Escherichia coli on Domestic Chicken Meat in Sweden. **Applied and**
881 **Environmental Microbiology**. v. 79, n. 7, p. 2463-2466. 2013.
- 882 BRADFORD, P. A. Extended-Spectrum Beta-lactamases in the 21st Century:
883 Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. New
884 York: **Clinical Microbiology Review**. v. 14, n. 4, p. 933-951. 2001.
- 885 **BRASIL**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 9,
886 de 27 de Junho de 2003. Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a
887 comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. Brasília;
888 2003.
- 889 **BRASIL**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 26,
890 de 9 de Julho de 2009. Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a

- 891 comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. Brasília;
892 2009.
- 893 BROOKS, G. F.; CARROLL, K. C.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A.; MIETZNER, T. A.
894 **Microbiologia Médica**. 25. ed., São Paulo: Artmed, 2012.
- 895 BUSH, K. Bench-to-bedside review: The role of β -lactamases in antibiotic-resistant Gram-
896 negative infections. **Critical Care**, 14:224, 2010.
- 897 BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. A functional classification scheme for
898 beta-lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrob Agents**
899 **Chemother**. V. 39, p. 1211-1233. 1995.
- 900 BUSH, K.; JACOBY, G.A. Updated Functional Classification of Beta-lactamases.
901 **Antimicrob Agents and Chemotherapy**. v. 54, n. 3, p. 969-976. 2010.
- 902 CAMPOS, M. **Identificação de Enterobactérias**. Biomedicina Total. 2015. Disponível
903 em: <<http://www.biomedicinatotal.com.br/2015/07/identificacao-de-enterobacterias.html>>.
904 Acesso em: 8 Abr. 2016.
- 905 CANTÓN, R.; MOROSINI, M. Emergence and Spread of antibiotic resistance following
906 exposure to antibiotics. **FEMS Microbiology Reviews**. V. 35. 5^a ed. p. 977 – 991. 2011.
- 907 CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Laboratory Detection of Extended-**
908 **Spectrum β -Lactamases (ESBL)**. 2010. Disponível em: <
909 https://www.cdc.gov/hai/settings/lab/lab_esbl.html>. Acesso em: 11 Mar. 2017.
- 910 CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for**
911 **Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From**
912 **Animals**. 2015.
- 913 COAN, M. M. **Detecção de genes codificadores de resistência a antimicrobianos de**
914 **importância clínica em amostras de carne de frango**. [Dissertação de Mestrado]
915 Programa de Pós-Graduação em Ciências – Faculdade de Saúde Pública da USP. São
916 Paulo – SP. 108 p. 2014.
- 917 COSTA, S. O. P. Elementos transponíveis em bactérias. In: MELO, I. S. et al. (eds).
918 Recursos genéticos e melhoramento – Microorganismos. **Embrapa Meio Ambiente**,
919 Jaguaripuna, SP, 2002.
- 920 COSTA, S. I. A. D. **Disseminação horizontal de genes que codificam para**
921 **betalactamases de espectro alargado em isolados de Enterobacteriaceae de origem**
922 **hospitalar**. [Tese de Doutorado] Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Faculdade
923 de Ciências da Saúde - Universidade Fernando Pessoa. Portugal. 2013.
- 924 DALMARCO, E. M.; BLATT, S. L.; CORDOVA, C. M. Identificação laboratorial de β -
925 lactamases de espectro estendido (ESBLs) – Revisão. **Revista Brasileira de Análises**
926 **Clinicas**. v. 38, n. 3, p. 171-177. 2006.
- 927 DAVIES, J.; DAVIES, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. **Microbiology**
928 **and Molecular Biology Reviews**. v. 74, n. 3, p. 417-433. 2010. doi:
929 10.1128/MMBR.00016-10

- 930 DEL FIOLE, F. S.; LOPES, L. C.; TOLEDO, M. I.; BARBERATO FILHO, S. Perfil de
931 prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Revista Sociedade Brasileira**
932 **de Medicina Tropical**. v.43, n.1, p. 68-72, 2011.
- 933 DENTON, M. Enterobacteriaceae. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v.
934 29, n. 3, p. 9–22. 2007.
- 935 DHANJI, H.; MURPHY, N. M.; DOUMITH, M.; DURMUS, S.; LEE, S. S.; HOPE, R.;
936 WOODFORD, N.; LIVERMORE, D. M. Cephalosporin resistance mechanisms in
937 *Escherichia Coli* isolated from raw chicken imported into the UK. **Journal of**
938 **Antimicrobial Chemotherapy**. v. 65, p. 2534-2537. 2010. doi:10.1093/jac/dkq376.
- 939 DIAS, D. J. **Estudo dos principais mecanismos de resistência aos antibióticos β-**
940 **lactâmicos em bactérias patogênicas de Gram-negativo**. [Dissertação de Mestrado]
941 Programa de Pós-Graduação em Genética Molecular e Biomedicina – Universidade Nova
942 de Lisboa. Lisboa. 100p. 2009.
- 943 DIERIKX, C.; GOOT, J.; FABRI, T.; ESSEN-ZANDBERGEN, A.; SMITH, H.;
944 MEVIUS, D. Extended-spectrum-β-lactamase- and AmpC-β-lactamase-producing
945 *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. **Journal of Antimicrobial**
946 **Chemotherapy**. v. 68, p. 60-67. 2013. doi:10.1093/jac/dks349
- 947 DRIEUX, L.; BROSSIER, F.; SOUGAKOFF, W.; JARLIER, V. Phenotypic detection of
948 extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench
949 guide. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 14, n. 1, p. 90-103. 2008.
- 950 DZIDIC, S.; BEDEKOVIC, V. Horizontal Gene Transfer emerging multidrug resistance in
951 hospital bacteria. **Acta Pharmacologica. Sinica**. v. 24. 6ª ed. p. 519 – 526. 2003.
- 952 EISENSTEIN, B. I.; ZALEZNIK, D. F. Enterobacteriaceae. In: Mandell, G. L.; Bennett, J.
953 E.; Dolin, R. (eds). Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and practice of infectious
954 diseases. **Churchill Livingstone**. 5 ed. v. 2. p. 2294-2309. 2000.
- 955 EUZÉBY, J. P. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: family
956 *Enterobacteriaceae*. 2010. Disponível em:
957 <<http://www.bacterio.cict.fr/e/enterobacteriaceae.html>>. Acesso em: 22 de Fev. 2017.
- 958 FALAGAS, M.E.; KARAGEORGOPOULOS, D. E. Extended-spectrum β-lactamase
959 producing organisms. **Journal of Hospital Infections**. v. 73, n. 4, p. 345-54. 2009.
- 960 FIGUEIRAL, A. C. D.; FARIA, M. G. I. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase: Um
961 problema sem solução? **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**. v. 9, n. 1,
962 p. 45-48. 2015.
- 963 FLEMING, A. The antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference
964 to their use in the isolation of *B influenzae*. **British Journal of Experimental Pathology**,
965 v. 10. n 3. p. 226-236. 1929.
- 966 GALES, A. C.; BOLMSTROM, A.; SAMPAIO, J.; JONES, R. N.; SADER, H. S.
967 Antimicrobial susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* producing ESBL isolated in
968 hospitals in Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v. 1. n. 4, p. 196-203. 1997.

- 969 GAMA, B. A. **Análise da resistência antimicrobiana e de genes de virulência de**
970 ***Enterococcus spp.*** [Dissertação de Mestrado] Programa de Pós-Graduação em Biologia
971 Molecular e Celular – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS. 73
972 p. 2008.
- 973 GARCÍA, C. S.; GÁNDARA, M. P.; GARCÍA, F. J. C. Beta lactamases de espectro
974 estendido em enterobactérias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. **Enfermedades**
975 **Infeciosas y Microbiología Clínica**. v. 28, n. 1, p. 12-18. 2010.
- 976 GAROFALO, C.; VIGNAROLI, C.; ZANDRI, G.; AQUILANT, L.; BORDONI, D.;
977 OSIMANI, A.; CLEMENTI, F.; BIAVASCO, F. Direct detection of antibiotic resistance
978 genes in specimens of chicken and pork meat. **Journal of Food Microbiology**. v. 113, n.
979 1, p. 75-83. 2007. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.07.015.
- 980 GRALHA, R. E. F. **Métodos de pesquisa de betalactamases em amostras clínicas –**
981 **estudo de revisão**. [Dissertação de Mestrado] Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas -
982 Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade Fernando Pessoa. Portugal. 2011.
- 983 GUPTA, V. An update on newer β -lactamases. **Indian Journal Med Res**. v. 126. 2007.
- 984 HALL, B. G.; BARLOW, M. Revised Ambler classification of b-lactamases. **Journal of**
985 **Antimicrobial Chemotherapy**. v. 10, p. 1050-1051. 2005.
- 986 JACOBY, G. A. AmpC B-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 22, n. 1, p. 161-
987 182. 2009.
- 988 JACOBY, G. A.; MUNOZ-PRICE, L. S. The new beta-lactamases. **The New England**
989 **Journal of Medicine**. V. 352, n. 4, p. 380-91. 2005.
- 990 JAURIN, B.; GRUNDSTROM, T. AmpC cephalosporinase of *Escherichia coli* K-12 has a
991 different evolutionary origin from that of b-lactamases of the penicillinase type.
992 **Proceeding of National Academy Sciences**. v. 78, p. 4897-4901. 1981.
- 993 JORGENSES, J. H.; MCELMEEL M. L.; FULCHER L. C.; ZIMMER B. L. Detection of
994 CTX-M-Type Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBLs) by Testing with MicroScan
995 Overnight and ESBL Confirmation Panels. **Journal of Clinical Microbiology**. 2009.
- 996 KAISER, T. D. L.; SANTIAGO, D. D.; MENDES, E. M. T.; MATOS, B. V. Detecção de
997 betalactamase de espectro estendido em isolados de enterobactérias provenientes de um
998 hospital da região de Santa Teresa-ES. **Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR**. v. 20,
999 n. 1, p. 3-7. 2016.
- 1000 KISKA, D.L. GILLIGAN, P. H. *Pseudomonas*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.;
1001 PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of Clinical Microbiology**.
1002 7ª ed. Washinton DC: Americam Society for Microbiology. p. 517-525. 1999.
- 1003 KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.;
1004 WINN, W. C. **Diagnóstico Microbiológico**. 5ed. Rio de Janeiro: Medisi. 2001.
- 1005 KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.;
1006 WINN, W. C.; PROCOP, G.; WOODS, G. **Diagnóstico microbiológico: texto e Atlas**
1007 **colorido**. *Enterobacteriaceae*. 6º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 208-299.
1008 2010.

- 1009 LAGO, A.; FUENTEFRIA, S. R.; FUENTEFRIA, D. B. Enterobactérias produtoras de
1010 ESBL em Passo Fundo, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista da Sociedade**
1011 **Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 4, p. 430-444. 2010.
- 1012 LAUBE, H.; FRIESE, A.; VON SALVIATI, C.; GUERRA, B.; KÄSBOHRER, A.;
1013 KREIENBROCK, L.; ROESLER, U. Longitudinal monitoring os Extended-Spectrum-
1014 Beta-Lactamase/AmpC- Producing *Escherichia Coli* at German Broiler Chicken fattening
1015 farms. **Journal Applied and Environmental Microbiology**. v. 79, n. 16, p. 4815-4820.
1016 2013. doi: 10.1128/AEM.00856-13.
- 1017 LEBEDEV, A. **Banco de Imagens - Fórmulas químicas estruturais de antibióticos.**
1018 2017. Disponível em:<[https://pt.123rf.com/photo_30656043_f%C3%B3rmulas-
1019 qu%C3%ADmicas-estruturais-de-antibi%C3%B3ticos.html](https://pt.123rf.com/photo_30656043_f%C3%B3rmulas-qu%C3%ADmicas-estruturais-de-antibi%C3%B3ticos.html)> Acesso em: 02 Dez. 2016.
1020
- 1021 LEWIS II, J. S.; HERRERA, M.; WICKES, B.; PATTERSON, J. E.; JORGENSEN, J. H.
1022 First report of the emergence of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) as
1023 the predominant ESBL isolated in a U.S. health care system. **Antimicrobial Agents and**
1024 **Chemotherapy**. V. 51, n. 11, p. 4015-21. 2007.
- 1025 LIVERMORE, D. M. Defining an extended-spectrum b-lactamase. **Clinical Microbiology**
1026 **and Infection**. v. 14, n. 1, p. 3–10. 2008.
- 1027 LUZZARO, F.; MEZZATESTA, M.; MUGNAIOLI, C.; PERILLI, M.; STEFANI, S.;
1028 AMICOSANTE, G.; ROSSOLINI, G. M.; TONIOLO, A. Trends in Production of
1029 Extended-Spectrum β -Lactamases among Enterobacteria of Medical Interest: Report of the
1030 Second Italian Nationwide Survey. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 44, n. 5, p. 1659-
1031 1664. 2006. doi:10.1128/JCM.44.5.1659–1664.2006
- 1032 MANA, M.; BOSSANI, N.; ROMANELLI, S.; SVIDZINSK, T. I. E.; LEMES, R. M. L.
1033 Prevalência de *Klebsiella* spp. ESBL isolada em Hospital Escola do Sul de Minas Gerais.
1034 **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. v.12, n. 2, p. 497-506. 2014.
- 1035 MANI-LÓPEZ, E.; GARCÍA, H. S.; LÓPEZ-MALO, A. Organic acids as antimicrobials to
1036 control Salmonella in meat and poultry products. **Food Research International**. v.45,
1037 p.713-721, 2012.
- 1038 MARRA, A. R.; CAMARGO, L. F. A.; PIGNATARI, A. C. C.; SUKIENNIK, T; et al.
1039 Nosocomial Bloodstream Infections in Brazilian Hospitals: analysis of 2,563 Cases from a
1040 Prospective Nationwide Surveillance Study. **J. Clin. Microbiol**, v.49, p.1866-1871, 2011.
- 1041 MARSHAL, B. M.; STUART, B. L. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on
1042 Humam Health. **Clinical Microbiology Reviews**. V. 24, n. 4, p. 718-733. 2011.
1043 doi:10.1128/CMR.00002-11.
- 1044 MARTINS, A. C.; PICOLI, S. U. Métodos alternativos para detecção de betalactamase de
1045 espectro estendido em *Escherichia coli* e *Klebsiellapneumoniae*. **Jornal Brasileiro de**
1046 **Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 421-426. 2011.
- 1047 MARTINS-LOUREIRO, M.; MORAES, B. A.; MENDONÇA, V.L.; ROCHA-QUADRA,
1048 M. R.; SANTOS-PINHEIRO, G.; DUTRA-ASENSI, M. Molecular epidemiology of
1049 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated for neonatal

- 1050 intensive care unit patients involved in hospital infection cases in Rio de Janeiro, Brazil.
1051 **Revista Latino americana de Microbiologia**. v. 43. 2ª ed. p. 88-95. 2001.
- 1052 MARTÍNEZ, J.; MARTÍNEZ, L.; ROSENBLUETH, M.; SILVA, J.; MARTINEZ, R.
1053 How are genes sequence analyses modifying bacterial taxonomy. **International**
1054 **Microbiology**. v. 7. p. 261-268. 2004.
- 1055 MATA, C; MIRÓ, E.; ALVARADO, A.; GARCILLÁN-BARCIA, M. P.; TOLEMAN,
1056 M.; WALSH, T. L.; DE LA CRUZ, F.; NAVARRO, F. Plasmid typing and genetic context
1057 of AmpC b-lactamases in Enterobacteriaceae lacking inducible chromosomal ampC genes:
1058 findings from a Spanish hospital 1999–2007. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**.
1059 v. 67, p. 115–122. 2012.
- 1060 MEDEIROS, A. A. Evolution and Dissemination of B-Lactamases Accelerated by
1061 Generations of B-lactams Antibiotics. **Clinical Infectious Diseases**. v. 24. p. 19–45. 1997.
- 1062 MENDES, F. R.; LEITE, P. R. S. C.; FERREIRA, L. L.; LACERDA, M. J. R.;
1063 ANDRADE, M. A. Utilização de antimicrobianos na avicultura. **Nutrime**. V. 10, n. 2, p.
1064 2352-2389. 2013.
- 1065 MEYER, G.; PICOLI, S. U. Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de
1066 hospital de emergência de Porto Alegre. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina**
1067 **Laboratorial**. v. 47, n. 1, p. 25-31. 2011.
- 1068 MODI, C. M.; MODY, S. K.; PATEL, H. D.; DUDHATRA, G. B.; KUMAR, A.;
1069 SHEIKN, T. J. Growth promoting use of antimicrobial agentes in animals. **Journal of**
1070 **Applied Pharmaceutical Science**. v. 1, n. 8, p. 33-36. 2011.
- 1071 MORENO-BONDI, M. C. Antibiotics in food and Environmental samples. **Analytical and**
1072 **Bioanalytical Chemistry**. v. 395, n. 4, p. 875-876. 2009.
- 1073 MONTEIRO, J.; SANTOS, A. F.; ASENSI, M. D.; PEIRANO, G.; GALES, A. C. First
1074 report of KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial Agents**
1075 **and Chemotherapy**. v. 53, n. 1, p. 333-334. 2009. doi:10.1128/AAC.00736-08
- 1076 MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of Clinical**
1077 **Microbiology**. 8ª ed. Washinton DC: Americam Society for Microbiology. Cap. 47, p.
1078 419-425: *Pseudomonas*. 2003.
- 1079 MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; JORGENSEN, J. H.; LANDRY, M. L.; PFALLER, M.
1080 A. **Manual of Clinical Microbiology**. 9ª ed. Americam Society for Microbiology:
1081 Washinton. v. 1, p. 649-669. 2007.
- 1082 NETO, V.A.; NICODEMO, A.C.; VASCONCELLOS, H. **Antibióticos na prática**
1083 **médica**. 6ª edição. Editora Sarver – São Paulo – Brasil. 2007.
- 1084 NICOLAU, D.P. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of meropenem.
1085 **Clinical Infectious Diseases**. v. 47, p. 32-40. 2008.
- 1086 NIKAIDO, H. Multidrug Resistance in Bacteria. **Anual Review of Biochemistry**. v. 78, p.
1087 119 - 146. 2009. doi:10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923

- 1088 NORDMANN P, CUZON G, NAAS T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae*
 1089 carbapenemase-producing bacteria. **The Lancet Infectious Diseases**. v. 9, p. 228–236.
 1090 2009.
- 1091 NOYAL M. J. C.; MENEZES, G.A.; HARISH, B. N.; SUJATHA S.; PARIJA S. C.
 1092 Simple screening tests for detection of carbapenemases in clinical isolates of
 1093 nonfermentative gram-negative bacteria. **Indian Journal Medical Research**. v. 129, n. 6,
 1094 p. 707-12. 2009.
- 1095 OLESEN, I.; HASMAN, H.; AARESTRUP, F. M. Prevalence of β -lactamases among
 1096 Ampicillin-Resistant *Escherichia Coli* and *Salmonella* isolated from food Animals in
 1097 Denmark. **Microbial Drug Resistance**. v. 10, n. 4, p. 334-340. 2005.
 1098 doi:10.1089/mdr.2004.10.334.
- 1099 OLIVEIRA, W. F.; CARDOSO, W. M.; MARQUES, L. C. L.; SALLES, R. P. R.;
 1100 AGUIAR FILHO, J. L. C.; TEIXEIRA, R. S. C.; ROMÃO, J. M.; LIMA, A. C. P.
 1101 Utilização de diferentes meios de cultura para o isolamento de enterobactérias em amostras
 1102 fecais de frangos de corte procedentes de explorações industriais do Estado do Ceará,
 1103 Brasil. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 99, n. 552, p. 211-214. 2004.
- 1104 OLIVEIRA, C. F.; FORNO, N. L. F. D.; ALVES, I. A.; HORTA, J. Á.; RIEGER, A.;
 1105 ALVES, S. H. Prevalência das famílias TEM, SHV e CTX-M de beta-lactamases de
 1106 espectro estendido em *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp no Hospital universitário de Santa
 1107 Maria, Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina**
 1108 **Tropical**. v. 42, n. 5 p. 556-560. 2009.
- 1109 OLIVEIRA, M. C. **Enterobacteriaceae resistentes às cefalosporinas de terceira geração**
 1110 **isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48 horas de internação em um hospital**
 1111 **geral: frequência, fatores de risco e impactos na evolução clínica**. [Dissertação de
 1112 Mestrado] Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical –
 1113 Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – MG. 81 p. 2013.
- 1114 PATERSON, D.; BOMONO, R. Extended Spectrum B-lactamases: A Clinical Update.
 1115 **Clinical Microbiology Reviews**. v. 18, p. 657-686. 2005.
- 1116 PAVEZ, M.; MAMIZUKA, E. M.; LINCOPAN, N. Early dissemination of KPC-2-
 1117 producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial Agents**
 1118 **Chemotherapy**. v. 53, n. 6. 2009.
- 1119 PFALLER, M. A.; SEGRETI, J. Overview of the epidemiological profile and laboratory
 1120 detection os extended-spectrum beta-lactamases. **Clinical Infectious Diseases**. v. 42. 2006.
- 1121 PORTAL BRASIL. **Líder mundial, Brasil vende carne de frango para 150 países**.
 1122 Disponível em: [http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2015/09/lider-mundial-](http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2015/09/lider-mundial-brasil-vende-carne-de-frango-para-150-paises)
 1123 [brasil-vende-carne-de-frango-para-150-paises](http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2015/09/lider-mundial-brasil-vende-carne-de-frango-para-150-paises). Acesso em: 3 de Ago de 2016.
- 1124 QUEENAN, A. M.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. **Clinical**
 1125 **Microbiology Reviews**. V. 20, N. 3, P. 440-58. 2007. doi:10.1128/CMR.00001-07
- 1126 QUEIROZ, G. M.; SILVA, L. M.; PIETRO, R. C. L. R.; SALGADO, H. R. N.
 1127 Multirresistência microbiana e opções terapêuticas disponíveis. **Revista da Sociedade**
 1128 **Brasileira de Clínica Médica**. v. 10, n. 2, p. 132-8. 2012.

- 1129 QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C.
 1130 **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. 1ª ed. Porto Alegre: editora Artmed.
 1131 512p. 2005.
- 1132 RANDALL, L. P.; CLOUTING, C.; HORTON, R. A.; COLDHAN, N. G.; WU, G.;
 1133 CLIFTON-HADLEY, F. A.; DAVIES R. H.; TEALE, C. J. Prevalence of Escherichia Coli
 1134 carrying extended-spectrum β -lactamases (CTX-M and TEM-52) from broiler chickens
 1135 and turkeys in Great Britain between 2006 and 2009. **Journal of Antimicrobial**
 1136 **Chemotherapy**. v. 66, p. 86-95. 2011. doi: 10.1093/jac/dkq396.
- 1137 RICE, L. B. The clinical consequences of antimicrobial resistance. **Current Opinion in**
 1138 **Microbiology**. v. 12, n. 5, p. 476-481. 2009.
- 1139 ROGRIGUES, F. C. B.; MESQUITA, A. R. C. Enterobactérias produtoras de beta-
 1140 lactamase de espectro ampliado (ESBL) em uroculturas de transplantados renais:
 1141 frequência e perfil de resistência. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v.48, n. 2, p.
 1142 129-32. 2016.
- 1143 RODRIGUEZ-BANO J, NAVARRO MD, ROMERO L, MUNIAIN, M. A.; PEREA, E. J.;
 1144 PÉREZ-CANO, R.; HERNÁNDEZ, J. R.; PASCUAL, A. Clinical and molecular
 1145 epidemiology of extended-spectrum β -lactamase- producing *Escherichia coli* as a cause of
 1146 nosocomial infection or colonization: implications for control. **Clinical Infectious**
 1147 **Diseases**. v. 42, n. 1, p. 37-45. 2006.
- 1148 ROSSI, F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. **Clinical Infectious**
 1149 **Diseases**. v. 52, n. 9, p. 1138-1143. 2011.
- 1150 ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. **Resistência Bacteriana: interpretando o antibiograma**.
 1151 São Paulo: Ed Atheneu. 2005.
- 1152 SAMAHA-KFOURY, J.N.; ARAJ, G.F. 2003. Recent developments in beta-lactamases
 1153 and extended spectrum beta-lactamases. *BMJ* 327, p. 1209-1213. 2003.
- 1154 SANTOS, M. M. **Resistência antimicrobiana em cepas bacterianas isoladas de celulite**
 1155 **aviária**. [Dissertação de Mestrado] Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina
 1156 Veterinária. 2012.
- 1157 SAVIOLLI, J.Y. **Pesquisa e caracterização de Escherichia coli patogênica (E. coli**
 1158 **produtora de toxina Shiga – STEC; E. coli aviária patogênica - APEC) de fragatas**
 1159 **(Fregata magnificens) da Costa do Estado de São Paulo**. 84 p. [Dissertação de
 1160 mestrado]. Universidade de São Paulo. 2010.
- 1161 SCHWABER, M. J.; CARMELI, Y. Mortality and delay in effective therapy associated
 1162 with extended-spectrum b-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a
 1163 systematic review and meta-analysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 60, p.
 1164 913-920. 2007. doi:10.1093/jac/dkm318
- 1165 SILVA, D. **Atividade antimicrobiana do Conocarpano seus derivados e análogos**
 1166 **frente a cepas resistentes de Staphylococcus aureus**. [Dissertação de Mestrado]
 1167 Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas – Universidade do Vale do
 1168 Itajaí. Itajaí – SC. 67 p. 2007.
- 1169 SOARES, M. A. Resistência Antibiótica. **Pharmacia Brasileira**. v. 3. n. 24 p. 59-62.
 1170 2001.

- 1171 STANGROOM, J. **SOCIAL SCIENCE STATISTIC**. 2017. Disponível em:
1172 <<http://www.socscistatistics.com/tests/fisher/Default2.aspx>>. Acesso em: 2 Mar. 2017.
- 1173 SUÁREZ, C.; GUDIOL, F. Antibióticos betalactâmicos. **Enfermedades Infecciosas y**
1174 **Microbiología Clínica**. v. 27. n. 2. p. 116-129. 2009.
- 1175 TASHIRO Y, UCHIYAMA H, NOMURA N. Multifunctional membrane vesicles in
1176 *Pseudomonas aeruginosa*. **Environmental Microbiology**. v. 14, n. 6, p. 1349-1362. 2012.
1177 doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02632.x
- 1178 TAVARES, C. P. **Caracterização molecular de *Enterobacteriaceae* não-*Klebsiella***
1179 ***pneumoniae* produtoras de KPC isoladas em diferentes estados brasileiros**.
1180 [Dissertação de Mestrado] Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Celular e
1181 Molecular. Rio de Janeiro – RJ. 130 p. 2014.
- 1182 TILLE, P. M. **Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology**. 13ed. Missouri: Elsevier;
1183 2014.
- 1184 TODAR, K. **Bacterial Resistance to Antibiotics**. 2008. Disponível em:
1185 <<http://textbookofbacteriology.net/resantimicrobial.html>>. Acesso em: 08 Set. 2016.
- 1186 TOSIN, I. **Avaliação do modo de disseminação da resistência bacteriana a**
1187 **antibacterianos nos hospitais brasileiros**. São Paulo: [s. n.], 2001.
- 1188 TRONGJIT, S.; ANGKITTITRAKUL, S.; CHUANCHUEN, R. Occurrence and molecular
1189 characteristics of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from broilers, pigs and meat
1190 products in Thailand and Cambodia provinces. *Microbiology and Immunology*. v. 60, p. 575-
1191 585. 2016. doi: 10.1111/1348-0421.12407
- 1192 UMED, O. ***Klebsiella* infections**. Microbiology Gulbarga University. 2002. Disponível
1193 em: <[http://: medicineinstantaccesstotheminds of medicine](http://medicineinstantaccesstotheminds of medicine)>. Acesso em: 10 de Abr. de
1194 2016.
- 1195 VARAIYA A. Y. Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases. **Indian Journal of**
1196 **Pathology and Microbiology**. v. 51, n. 3 p. 370-2. 2008.
- 1197 VASCONCELOS, M. C.; SILVA, C. L.; MEZA, M. L. F, G; BASSI, M. S. S. Trajetória
1198 tecnológica da cadeia produtiva do frango de corte no Brasil. **Iniciação Científica**
1199 **CESUMAR**. v. 17, n. 1, p. 15-27. 2015.
- 1200 VILLEGAS, M. V.; LOLANS, K.; CORREA, A.; SUAREZ, C. J.; LOPEZ, J.A.;
1201 VALLEJO, M.; QUINN, J. P. First detection of the plasmid-mediated class A
1202 carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America.
1203 **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 50, n. 8, p. 2880-2882. 2006.
1204 doi:10.1128/AAC.00186-06
- 1205 VILLEGAS, M. V.; LOLANS, K.; CORREA, A.; KATTAN, J. N.; LOPEZ, J.A.; QUINN,
1206 J. P. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type
1207 carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.
1208 51, n. 4, p. 1553-1555. 2007. doi:10.1128/AAC.01405-06
- 1209 WALLINGA, D.; BURCH, D. G. S. Does adding routine antibiotics to animal feed pose a
1210 serious risk to Human Health. **BMJ**. 2013. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.f4214>

- 1211 WALTHER-RASMUSSEN, J.; HOIBY, N. Class A carbapenemases. **Journal**
1212 **Antimicrobial Chemotherapy**. v. 60, p. 470-482. 2007. doi:10.1093/jac/dkm226
- 1213 WARREN, R. E.; ENSOR, V. M.; NEILL, P. O.; BUTLER, V.; TAYLOR, J.; et al.
1214 Imported chicken meat as a potential source of quinolone-resistant *Escherichia coli*
1215 producing extended-spectrum β -Lactamases in the UK. **Journal of Antimicrobial**
1216 **Chemotherapy**. v. 61, p. 504-508. 2008. doi:10.1093/jac/dkm517
- 1217 WILLCOX, M. D. *Pseudomonas aeruginosa* infection and inflammation during contact
1218 lens wear: a review. **Optometry and Vision Science**. v. 84, n. 4, p. 273-278. 2007.
1219 doi:10.1097/OPX.0b013e3180439c3e
- 1220 WHO (World Health Organization). **Antimicrobial resistance**. Disponível em: <
1221 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>>. Acesso em: 6 de Set. 2016.
- 1222 WOODFORD, N.; PALEPOU, M. F.; BABINI, G. S.; HOLMES, B.; LIVERMORE, D.
1223 M. Carbapenemases of *Chryseobacterium* (Flavobacterium) meningosepticum:
1224 Distribution of blaB and Characterization of a Novel Metallo- β -Lactamase Gene, blaB3, in
1225 the Type Strain, NCTC 10016. **Antimicrobial agents and Chemotherapy**. v. 44, n. 6,
1226 p. 1448-1452. 2000.
- 1227 YIGIT, H.; QUEENAN, A.M.; ANDERSON, G. J.; DOMENECH-SANCHEZ, A.;
1228 BIDDLE, J. W.; STEWARD, C. D.; ALBERTI, S. KAREN BUSH, K.; FRED C.
1229 TENOVER, F. C. Novel carbapenem-hydrolyzing Beta-lactamase, KPC-1, from a
1230 carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents Chemother.**
1231 v. 45, n. 4, p. 1151-61. 2001.
- 1232 ZHANEL, G. G.; WIEBE, R.; DILAY, L.; THOMSON, K.; RUBINSTEIN, E.; HOBAN,
1233 D. J.; NOREDDIN, A. M.; KARLOWSKY, J.A. Comparative review of the
1234 carbapenêmicos. **Drugs**. v. 67, n. 7, p. 1027-1052. 2007.
- 1235 ZHAO, L.; DONG, Y. M.; WANG, H. Residues of Veterinary antibiotics in masures from
1236 feedlot livestock in eight provinces of China. **Science of the Total Environment**. v. 408,
1237 n. 5, p. 1069-1075. 2010.