

SARAH VITÓRIA MARTINS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DE *Enterobacterales* PRODUTORES
DE ESBL ISOLADOS DE COLONIZAÇÃO COMUNITÁRIA
DO TRATO GASTROINTESTINAL



**Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes,
da Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como pré-requisito para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas:
Microbiologia e Imunologia.**

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
RIO DE JANEIRO
NOVEMBRO/ 2023

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia Médica, do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob a orientação da Profa. Dra. Renata Cristina Picão e coorientação do Me. Gabriel Taddeucci Rocha.

FICHA CATALOGRÁFICA**CIP - Catalogação na Publicação**

d111c da Silva, Sarah Vitória Martins
Caracterização de Enterobacterales produtores de
ESBL isolados de colonização comunitária / Sarah
Vitória Martins da Silva. -- Rio de Janeiro, 2023.
82 f.

Orientadora: Renata Cristina Picão .
Coorientador: Gabriel Taddeucci Rocha.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto
de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas:
Microbiologia e Imunologia, 2023.

1. ESBL . 2. resistência . 3. Enterobacterales .
4. colonização comunitária . I. Picão , Renata
Cristina , orient. II. Rocha, Gabriel Taddeucci ,
coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

Dedico esse trabalho a Débora Léa Martins da Silva, Luiz Alberto Martins (*in memoriam*), mãe e avô incríveis. Acredito que sem vocês eu nem estaria aqui. Sempre amarei vocês. Ao meu pai, Eraldo Valentim da Silva, por sempre estar ao meu lado, te amo muito pai e obrigado por tudo.

“O que prevemos raramente ocorre; o que menos esperamos geralmente acontece.”

- Benjamin Disraeli

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, preciso confessar que ao me deparar com essa página de agradecimentos, inúmeras memórias surgem em minha mente, principalmente no percurso até chegar aqui, quase Bacharel. Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por todo o cuidado, amparo e principalmente a oportunidade e privilégio de entrar na Universidade Federal do Rio de Janeiro, lembro que quando me inscrevi no SISU, nem imaginava que viveria tudo isso até aqui, por isso, Deus, muito obrigado por tudo, creio que se o Senhor não estivesse ao meu lado, eu não teria suportado nem um terço da graduação, os momentos difíceis, principalmente. A Deus, principalmente dedico essa conquista e meu caminho daqui em diante pois, tudo isso só me esclareço o amor, bondade e cuidado de Deus para comigo e a importância de seguir e fazer a Sua vontade. Também dedico o meu trabalho de conclusão de curso a minha mãe, meu avô (*in memoriam*) que infelizmente não se encontram mais aqui, porém acredito que estariam pulando de alegria juntamente comigo nesse momento, espero que estejam orgulhosos da menina de vocês que está crescendo e amadurecendo a cada dia, amo vocês eternamente.

Agradeço a minha família, que me deram forças para continuar e seguir os meus sonhos e metas, em especial minha avó materna, Maria Léa, vó te amo muito e sou grata a Deus pela sua vida, obrigado por todos os ensinamentos, ligações e por sempre estar do meu lado me apoiando e me aconselhando, o mesmo serve para a minha tia Edilene, tia, te amo e obrigada por tudo, cada abraço, brincadeiras sempre que eu chegava em casa depois de um dia exaustivo, a senhora sem dúvidas tem sido a mãe que infelizmente eu não pude ter, e com certeza minha mãe estaria feliz e orgulhosa. Thais, John, Marcos, amo vocês e obrigado por tudo e saiba que nessa conquista vocês também tem uma parcela; Maya, obrigada por ser essa criança tão carinhosa e meiga, amo muito você e com certeza você com cada abraço e chamando “Sarah Sarah” sempre que eu chegava em casa da faculdade, fazia esquecer qualquer cansaço. Aos demais da família, sou grata a vocês pelo apoio e compreensão, em especial ao meu pai, Eraldo Valentim, pai, sem você eu não teria conseguido, te amo e saiba que o seu apoio, palavras e por ser você pai, me auxiliaram para chegar até aqui. Agradeço também a minha avó paterna, Maria do Socorro, obrigada por tudo vó, meus tios, Eudes, Rafael, Henrique, Tia avó Solange vocês também me ajudaram bastante e amo vocês.

Agradeço ao meu namorado, Jocilei, meu bem muito obrigado por todas as palavras de incentivo, por sempre acreditar em mim quando eu mesma não estava acreditando que conseguiria, obrigado por cada abraço, por cada momento e por sempre tentar tirar um sorriso meu depois de um dia exaustivo, depois que eu falava que algo não tinha saído como esperado, te amo muito, e obrigado também por cada oração. Agradeço também a todos da igreja que sempre estiveram orando e me apoiando nesse período, amo vocês.

Agradeço às minhas amigas que a graduação me presenteou, Jéssica, Vick, o que falar de vocês ein? Só tenho a agradecer por toda a parceria, por todos os momentos, risadas, brincadeiras...por tudo!! Com certeza vocês fizeram essa graduação ser mais leve, principalmente a iniciação científica e no dia-a-dia no lab. Amo vocês e quero levá-las para a vida.

Agradeço ao L IMM, esse laboratório que me acolheu desde o primeiro momento em que entrei. Sou grata a todos por me cederem um espaço, compartilharem o conhecimento, me tiraram uma dúvida, aprendizados e por tudo que aprendi nesses 2 anos e meio que estive com todos vocês. Professor Sérgio, Professora Raquel, Professora Karla, Professora Beatriz, meu muito obrigada a todos vocês!! Sem dúvidas os ensinamentos, palavras e todo o conhecimento que me passaram de forma direta e indiretamente, levarei para a vida. Agradeço também ao Vinícius, Luca, Fernanda, Valéria, Gabi, Thais, Lari e Laís que compõem o L IMM porém me marcaram de alguma forma na rotina, muita das vezes caóticas do lab.

Agradeço à minha orientadora, professora Renata Picão, muito obrigada por todo o apoio por ter acreditado em mim e me aceito como sua aluna de iniciação científica, obrigado por cada ensinamento, cada palavra, pela paciência e por tudo, e agora, por me fazer dar um google e descobrir quem é “essa tal da roupa nova” kkkk. Agradeço também ao meu coorientador, Gabriel Taddeucci, muito obrigado principalmente pela paciência, confesso que não sou uma pessoa nada fácil porém você teve toda a paciência de me ensinar, me acompanhar e me ensinar tudo que eu precisava de bancada e conhecimento. Vocês foram ímpar para essa conquista, e saibam que quero ser um terço dos microbiologistas incríveis que são. Tenho um carinho muito grande por vocês e quero levar para a vida.

Aos amigos de ensino técnico, agradeço a Vanessa e Edhuarda que mesmo de longe continuam do meu lado, me apoiando e me auxiliando sempre que necessário.

À CNPQ e FAPERJ agradeço pelo apoio e financiamento.

Agradeço imensamente a UFRJ, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes e a SGAADA que com seus professores e profissionais incríveis me proporcionaram adquirir todo o conhecimento necessário nessa graduação e por terem contribuído para minha vida também secular como acadêmica quanto profissional. À banca examinadora Beatriz, Márcia, Gabriela e Sérgio. Muito obrigado por aceitarem compartilharem os conhecimentos que possuem e me auxiliarem a tornar esse estudo ainda melhor.

RESUMO

SARAH VITÓRIA MARTINS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DE *Enterobacterales* PRODUTORES DE ESBL ISOLADOS DE COLONIZAÇÃO COMUNITÁRIA

Orientadora: Renata Cristina Picão

Coorientador: Gabriel Taddeucci Rocha

Resumo da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

A resistência bacteriana é um problema de saúde global e, neste contexto, a ordem *Enterobacterales* recebe destaque. No entanto, poucos estudos investigam a disseminação desses organismos envolvidos com a colonização comunitária. O objetivo desse projeto foi de caracterizar cepas pertencentes à ordem *Enterobacterales* quanto à produção de ESBL envolvidas na colonização comunitária do TGI em humanos. Foram coletados *swabs* retais de indivíduos sem histórico de internação recente, admitidos na emergência de um hospital público e um hospital privado do Rio de Janeiro. Os espécimes clínicos foram avaliados quanto a sua viabilidade em meio de cultura não seletivo e cultivados em ágar MacConkey (MAC) na vigência de ceftriaxona (1,5 µg/mL). As amostras crescidas foram replicadas, através da técnica *replica plating*, em MAC com cefepima (16 µg/mL), em seguida foi realizada a identificação pelo MALDI-TOF MS e, posteriormente, o teste fenotípico para detecção de ESBL por meio de disco-aproximação. Para as amostras positivas, foi realizada a pesquisa dos genes por PCR para a detecção de: *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} e *bla*_{GES} e *bla*_{CTX-M} dos grupos 1/2, 8 e 9. Foi realizada a classificação quanto ao grupo filogenético das amostras de *E. coli* e o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos. Foram incluídos no estudo 228 indivíduos, dos quais

85 apresentaram *swabs* positivos para o crescimento em cefepima. Foram recuperadas 289 cepas, das quais 161 apresentaram fenótipo positivo para a produção de ESBL. As cepas com fenótipo positivo foram oriundas de 47 indivíduos, representando prevalência de 20,6%. A produção de ESBL foi observada com maior frequência na espécie *E. coli* (140, 87%), seguida por *K. pneumoniae* (14, 8,7%), *P. stuartii* (4, 2,48%), *C. freundii* (2, 1,24%) e *H. alvei* (1, 0,62%); e os genes relacionados mais frequentes foram *bla*_{CTX-M-1/2} (150, 93,1%), seguido de *bla*_{TEM} (62, 38%), *bla*_{CTX-M-8} (47, 29,2%), *bla*_{CTX-M-9} (37, 23%) e *bla*_{SHV} (18, 11,2%). Ao todo, foram encontrados 17 perfis considerando os genes codificadores de ESBL identificados, 13 dos quais apresentavam mais de um gene codificador de ESBL. Três cepas apresentaram a amplificação somente de *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV}, portanto o sequenciamento do produto amplificado se faz necessário para confirmar se é ou não o determinante da produção de ESBL. A maioria das cepas de *E. coli* produtoras de ESBL foram categorizadas como pertencentes ao filogrupo A ou C, seguido dos filogrupos F, D ou E, B1, B2, A, Clado I ou II, E ou Clado I e U. Quanto ao antibiograma, 69 perfis de resistência foram encontrados, com destaque para a resistência a outras classes de antimicrobianos, principalmente quinolonas (78,6%), aminoglicosídeos (33%), e nitrofurantoína (16,5%). Nossos achados são preocupantes pois indicam uma grande prevalência de ESBL na colonização comunitária do TGI em indivíduos que buscam pronto atendimento, principalmente — mas não limitado a — *E. coli* produtora de CTX-M-1/2, o que pode representar uma importante rota de entrada da resistência nos hospitais.

Palavras-chaves: ESBL, resistência, *Enterobacteriales*, colonização comunitária.

ABSTRACT**SARAH VITÓRIA MARTINS DA SILVA****CARACTERIZAÇÃO DE *Enterobacterales* PRODUTORES DE ESBL ISOLADOS DE COLONIZAÇÃO COMUNITÁRIA****Orientadora: Renata Cristina Picão****Coorientador: Gabriel Taddeucci Rocha**

Abstract da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

Bacterial resistance is a global health problem, and in this context, the Enterobacterales order stands out. However, few studies investigate the spread of these organisms involved in community colonization. The aim of this project was to characterize strains belonging to the Enterobacterales order regarding ESBL production involved in community colonization of the gastrointestinal tract (TGI) in humans. Rectal swabs were collected from individuals with no recent hospitalization history admitted to the emergency departments of a public and a private hospital in Rio de Janeiro. Clinical specimens were assessed for viability on non-selective culture medium and cultivated on MacConkey agar (MAC) in the presence of ceftriaxone (1.5 µg/mL). Grown samples were replicated using the replica plating technique on MAC with cefepime (16 µg/mL). Subsequently, identification was performed using MALDI-TOF MS, followed by a phenotypic test for ESBL detection using disk approximation. For positive samples, gene research was conducted via PCR for the detection of *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{GES}, and *bla*_{CTX-M} from groups 1/2, 8, and 9. The phylogenetic group classification of *E. coli* strains and antimicrobial susceptibility testing were also carried out. The study included 228 individuals, of whom 85 presented positive swabs for growth in cefepime. A total of 289 strains were

recovered, with 161 showing a positive phenotype for ESBL production. Strains with a positive phenotype originated from 47 individuals, representing a prevalence of 20.6%. ESBL production was most frequently observed in *E. coli* (140, 87%), followed by *K. pneumoniae* (14, 8.7%), *P. stuartii* (4, 2.48%), *C. freundii* (2, 1.24%), and *H. alvei* (1, 0.62%). The most frequently related genes were *bla*_{CTX-M1/2} (150, 93.1%), followed by *bla*_{TEM} (62, 38%), *bla*_{CTX-M8} (47, 29.2%), *bla*_{CTX-M9} (37, 23%), and *bla*_{SHV} (18, 11.2%). In total, 17 profiles were found considering the identified ESBL-encoding genes, 13 of which had more than one ESBL-encoding gene. Three strains showed amplification only of *bla*_{TEM} and *bla*_{SHV}, so sequencing of the amplified product is necessary to confirm whether it is the determinant of ESBL production or not. Most ESBL-producing *E. coli* strains were categorized as belonging to phylogroups A or C, followed by phylogroups F, D or E, B1, B2, A, Clade I or II, E or Clade I, and U. Regarding antibiogram, 69 resistance profiles were found, highlighting resistance to other classes of antimicrobials, especially quinolones (78.6%), aminoglycosides (33%), and nitrofurantoin (16.5%). Our findings are concerning as they indicate a high prevalence of ESBL in the community colonization of the TGI in individuals seeking emergency care, primarily – but not limited to – CTX-M1/2-producing *E. coli*. This could represent a significant route for resistance entry into hospitals.

Key-words: ESBL, resistance, *Enterobacterales*, community colonization.

RESUMO PARA LEIGOS

SARAH VITÓRIA MARTINS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DE *Enterobacteriales* PRODUTORES DE ESBL ISOLADOS DE COLONIZAÇÃO COMUNITÁRIA

Orientadora: Renata Cristina Picão

Coorientador: Gabriel Taddeucci Rocha

Resumo para leigos da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

Duas em cada 10 pessoas que residem na região metropolitana do Rio de Janeiro possuem bactérias no intestino que são capazes de resistir aos melhores antibióticos, como sugerem os resultados aqui apresentados. Além disso, uma alta diversidade de genes chamados *bla* envolvidos com esse fenômeno foi observada; bem como altas taxas de resistência a outros antibióticos de importância clínica. O estudo teve a participação de pessoas sem histórico de internação recente, atendidas na emergência de um hospital público e um privado em Niterói. Para a realização dessa pesquisa, os voluntários forneceram amostras fecais coletadas com um grande cotonete conhecido como *swab*, que foram desafiadas na presença de um grupo de antibióticos muito importante chamado betalactâmicos. As bactérias obtidas nesta etapa foram avaliadas quanto à produção de resistência e os genes envolvidos foram investigados. Esses antibióticos, em especial os betalactâmicos, têm grande importância para a medicina moderna; e a presença de bactérias resistentes pode impactar a eficiência desses medicamentos e, conseqüentemente, os cuidados com a saúde como hoje conhecemos. Nosso estudo alerta para o estado do intestino das pessoas na comunidade, contendo bactérias resistentes, podendo servir como reservatório e veículos dessas bactérias para ambientes hospitalares, onde o impacto pode ser ainda maior.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação das betalactamases de acordo com Bush, Jacoby e Medeiros.....	8
Tabela 2- Oligonucleotídeos iniciadores para a detecção de genes envolvidos na produção de ESBL.....	19
Tabela 3- Lista de genes empregados na tipificação quanto ao grupo filogenético.....	21
Tabela 4- Interpretação do resultado para determinação do grupo filogenético.....	22
Tabela 5- Perfil genotípico de <i>Enterobacterales</i> recuperadas em CPM16 e positivas ao teste fenotípico para detecção da produção de ESBL.....	26
Tabela 6- Caracterização dos grupos filogenéticos das amostras de <i>E. coli</i>	28
Tabela 7- Perfis de resistência ou susceptibilidade reduzida das amostras recuperadas em CPM16.....	29
Tabela 8- Panorama geral da colonização dos indivíduos incluídos no estudo.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BGN	Bacilos gram-negativos
BrCAST	do inglês, <i>Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
CDC	do inglês, Centers for Disease Control and Prevention
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CLSI	do inglês, <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CNPQ	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CPM16	Cefepima à 16µg/mL
CRO	Ceftriaxona
CTX-M	Família de betalactamases de espectro estendido, cefotaximase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EGM	Elementos genéticos móveis
ESBL	Betalactamases de espectro estendido
EUA	Estados Unidos da América
FAPERJ	Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do RJ
GES	Família de betalactamases <i>Guyana extended-spectrum</i>
ICS	Infecções da corrente sanguínea
IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
ITU	Infecções no trato genitourinário
LIMM	Laboratório de Investigação em Microbiologia Médica
MALDI-TOF MS	do inglês, <i>Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry</i>
NAM	ácido N-acetilmurâmico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBP	do inglês, <i>penicillin-binding protein</i>
PCR	do inglês, <i>Polimerase Chain Reaction</i>
SHV	Família de betalactamases <i>Sulphydryl variant</i>
TEM	Família de betalactamases, cujo nome provém da paciente Temoneira

THG	Transferência Horizontal de Genes
TSA	Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

INDÍCE

RESUMO	X
ABSTRACT	XII
RESUMO PARA LEIGOS	XIV
LISTA DE TABELAS	XV
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XVI
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Apresentação do problema	1
1.2 Enterobacterales	2
1.3 Betalactâmicos	3
1.4 Resistência aos betalactâmicos pela produção de betalactamases	6
1.5 Disseminação de ESBL no ambiente	8
1.6 Colonização comunitária por Enterobacterales produtoras de ESBL	9
2. JUSTIFICATIVA	12
3. OBJETIVOS	13
3.1 Etapas	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1 Amostras bacterianas	14
4.2 Confirmação da identificação das amostras	14
4.3 Detecção fenotípica da produção de ESBL	14
4.4 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA)	15
4.5 Obtenção do DNA bacteriano	16
4.6 Detecção dos genes codificadores de ESBL	16
4.7. Tipificação quanto ao grupo filogenético	18
4.8 Seleção das amostras de <i>E. coli</i> para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos	20
4.9 Eletroforese	20
5. RESULTADOS	22
5.1 Amostras bacterianas e confirmação da identificação das amostras	22
5.2 Detecção fenotípica da produção de ESBL	22
5.3 Detecção dos genes codificadores de ESBL	23
5.4 Grupo filogenético	26
5.5 Seleção das amostras de <i>E. coli</i> para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos	26
5.6 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos	27
5.7 Panorama geral da colonização do estudo	29

6. DISCUSSÃO	32
7. CONCLUSÕES	37
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
9. ANEXOS	49
ANEXO I: Parecer Consubstanciado do CEP	49
ANEXO II: Amostras de <i>E. coli</i> selecionadas para o TSA	50

1. INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação do problema

A resistência aos antimicrobianos é um problema de saúde pública global no século XXI, devido à limitação ou ausência de antimicrobianos para o combate de infecções. A dificuldade para o tratamento dessas doenças gera aumento dos índices de morbidade e mortalidade; e impacto econômico resultante do longo período de tratamento, maior período de internação, necessidade do uso de diversos antibióticos, e necessidade de implementação de medidas de redução dos danos provocados pela infecção, e medidas de controle para evitar a disseminação desses microrganismos resistentes nas unidades hospitalares (CDC, 2019; O'Neill, 2014; WHO, 2017).

Os bacilos gram-negativos pertencentes à ordem Enterobacterales estão entre as cepas resistentes mais associadas a casos de infecções em humanos, pois são microrganismos com considerável potencial patogênico. Além disso, apresentam a capacidade de realizar a troca de material genético por meio da transferência horizontal de genes (THG) entre cepas da mesma espécie, ou até mesmo entre espécies e/ou gêneros diferentes, acumulando genes e elementos genéticos móveis (EGM) que fazem a codificação dos mecanismos de resistência (Serna, 2022). Nos EUA, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC; do inglês, Centers for Disease Control and Prevention) produziu um documento em 2013 categorizando os principais microrganismos resistentes aos antimicrobianos utilizados no tratamento das infecções que causam em humanos. Neste documento, as enterobactérias produtoras de ESBL foram classificadas como uma ameaça grave (CDC, 2013). Em 2019, houve uma atualização deste documento relatando um aumento significativo no número de infecções por enterobactérias produtoras de ESBL (CDC, 2013; 2019). Em 2022, um estudo global estimou que 1,27 milhões das mortes que ocorreram em 2019 são atribuíveis diretamente à resistência, além disso, também foi observado que 4,95 milhões de mortes estavam associadas à resistência bacteriana aos antimicrobianos, incluindo aquelas diretamente atribuíveis (Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022).

É importante ressaltar que os antibióticos e os determinantes de resistência aos antimicrobianos são estruturas encontradas na natureza, independente da interferência humana.

Os microrganismos são capazes de produzir substâncias antibióticas para conseguir vantagem de crescimento e defesa contra organismos com os quais competem por nutrientes (Berkner, 2014). No entanto, o uso de antimicrobianos na esfera humana impulsiona o fenômeno da resistência. Outros potenciadores incluem o controle de infecção deficiente, contaminação ambiental e o movimento geográfico de humanos e animais de companhia e de produção, alimentos e matrizes ambientais que carregam bactérias resistentes em suas microbiotas (WHO, 2015; McEwen, 2018; Wernli, 2022; Serna, 2022).

Assim, a emergência e disseminação da resistência bacteriana está aumentando em todo o mundo e significa uma ameaça ao futuro da saúde humana, animal e ambiental caso não ocorram ações que intervenham na evolução da resistência (O'Neill, 2016). Por esse motivo, a Organização Mundial da Saúde (OMS) liderou uma campanha internacional e os países signatários se comprometeram a implementar planos de ações dedicados ao combate da resistência aos antimicrobianos.

1.2 *Enterobacterales*

A ordem *Enterobacterales* inclui um grupo heterogêneo de bactérias gram-negativas, anaeróbias facultativas e que se organizam em forma de bastonete dentro da classe *Gammaproteobacteria*. Além disso, esse grupo consiste em sete famílias: *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae*, e *Budviciaceae* (Adeolu *et al.*, 2016; Brenner e Farmer, 2005). Muitos membros desse grupo foram implicados como microrganismos oportunistas em animais, incluindo humanos, como as espécies *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, entre outros gêneros como *Salmonella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Yersinia* e *Shigella* pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, que é uma das famílias bacterianas taxonomicamente mais diversas e reconhecidas (Bonn & van der Zwet, 2000; GoodrichBlair & Clarke, 2007). Ainda, além de serem bacilos, os membros da família *Enterobacteriaceae* não são esporulados, possuem motilidade variável, crescem na presença ou ausência de oxigênio, podem fermentar a glicose, são citocromo oxidase negativos, e capazes de reduzir nitrato a nitrito (Adeolu *et al.*, 2016). Estão geralmente associados às infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), como infecções do trato genitourinário (ITU), infecções da corrente sanguínea (ICS) e infecções em sítios específicos para cirurgia, visto que

estes microrganismos possuem potencial patogênico para causarem doença, principalmente em imunocomprometidos, mas também em indivíduos saudáveis. Por isso, apesar do protagonismo em infecções provocadas por eles no âmbito hospitalar, também geram preocupação em ambientes extra-hospitalares (Mehrad *et al.*, 2015).

De acordo com o Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde emitido pela ANVISA entre os anos 2012 a 2022, dentre os microrganismos mais isolados das IRAS, se destacou *K. pneumoniae* com percentual de resistência de 55,32% aos antimicrobianos das classes betalactâmicos, seguido dos carbapenêmicos, ceftazidima/avibactam e as polimixinas (ANVISA, 2022). Um outro estudo realizado em 2020 por Duszynska envolvendo pacientes tratados por mais de 48 horas na UTI do *Medical University Teaching Hospital*, localizado na Polônia, visando a vigilância e prevenção de IRAS, relata que 63% das IRAS foram causadas por bactérias gram-negativas (Duszynska, 2020). Em condições normais, o tratamento das infecções provocadas por enterobactérias pode ser feito por meio da utilização dos antimicrobianos como os aminoglicosídeos, quinolonas, sulfonamidas e polimixinas, incluindo a classe dos betalactâmicos, para esses microrganismos (da Silva e Lincopan, 2012; Sánchez, 2015).

1.3 Betalactâmicos

Desde a descoberta da penicilina por Fleming em 1929, os betalactâmicos permaneceram como a classe de antibióticos entre os mais utilizados na medicina, representando cerca de 65% de todas as prescrições médicas nos EUA (Fleming, 1929; Bush, 2016). Dessa forma, os betalactâmicos são um dos principais fármacos utilizados no tratamento de infecções causadas por bacilos gram-negativos, pois geralmente apresentam elevada eficácia e amplitude de espectro de ação, apesar de possuírem efeitos colaterais em algumas pessoas, como respostas alérgicas ou reação tardia de hipersensibilidade (Livermore e Williams, 1996; Pitout, Sanders e Sanders, 1997; Rahman *et al.*, 2018; Bush, 2019; 2016). Quimicamente, essas substâncias são subdivididas em seis subgrupos, sendo estes: penicilinas; cefalosporinas de primeira a quinta geração; cefamicinas, que são estruturalmente similares às cefalosporinas de segunda geração; carbapenemas; monobactâmicos; e os inibidores de betalactamases. Em relação à sua estrutura, os antimicrobianos pertencentes a essa classe possuem um anel betalactâmico constituído por três átomos de carbono e um átomo de nitrogênio (Samaha-kfoury, 2003; Rahman *et al.*, 2018).

O mecanismo de ação dos betalactâmicos se dá pela inibição da síntese da parede celular bacteriana e pela indução da autólise bacteriana, a qual confere uma ação bactericida (Babic, Hujer e Bonomo, 2006; Essack, 2001). O anel betalactâmico tem semelhança ao dipeptídeo D-alanina-D-alanina (D-Ala-D-Ala), que corresponde à fração final do pentapeptídeo de ligação cruzada da cadeia do ácido N-acetilmurâmico (NAM) do peptidoglicano. Assim, os betalactâmicos agem se ligando às enzimas de síntese da parede celular, também conhecidas como proteínas de ligação à penicilina (PBPs), inibindo a síntese de peptidoglicano. Essa inibição de PBPs enfraquece a parede celular e resulta tanto na inibição do crescimento bacteriano, como também na morte celular (Rice, 2012).

As penicilinas são os antibióticos frequentemente usados no tratamento de infecções bacterianas em todo o mundo. São classificadas em naturais, como a penicilina G e V, ou semi-sintéticas, incluindo as resistentes à penicilinase, aminopenicilinas e penicilinas antipseudomonas (Vrancianu, 2020). A penicilina G, também chamada de benzilpenicilina, foi o primeiro betalactâmico usado pela clínica no tratamento de infecções por estreptococos; Outra penicilina natural, também conhecida por fenoximetilpenicilina (penicilina V), apresenta formulação oral sendo usado como estratégia terapêutica e profilática para infecções leves e moderadas por *Streptococcus* spp. suscetíveis, além do uso em crianças (Bush, 2016; Pottegard *et al.*, 2015). Algumas cepas produtoras de penicilinase também apareceram, e este problema contribuiu para o desenvolvimento das semi-sintéticas, originando a segunda geração de penicilinas incluindo oxacilina, dicloxacilina e meticilina que, apesar de possuírem mais estabilidade, são menos eficazes contra microrganismos gram-positivos com susceptibilidade à penicilinase quando comparada às penicilinas naturais, além da falta de ação contra espécies gram-negativas (Vrancianu, 2020).

A necessidade de ação contra cepas gram-negativas corroborou o desenvolvimento da terceira geração de penicilinas, as aminopenicilinas, que incluem a ampicilina e amoxicilina e apresentam alta atividade contra *Enterococcus* spp. e diversas espécies gram-negativas, como *E. coli*. Geralmente, a forma de administração da ampicilina é por via parenteral, enquanto a amoxicilina é por via oral, no entanto, a estabilidade delas é considerada fraca e suscetível ao ataque de penicilinase estafilocócica e betalactamases produzidas pelas bactérias gram-negativas. A eficácia limitada das penicilinas contra microrganismos gram-negativos desencadeou o

desenvolvimento de novas classes de antibióticos com maior espectro de ação, como as penicilinas antipseudomonas carboxipenicilinas (ticarciclina e carbenicilina) e a ureidopenicilina piperacilina (Vrancianu 2020; Sykes, 2013; Balsalobre, 2019). Nos últimos anos, a eficácia dos antibióticos com base de penicilina pode ser acelerada quando combinada com os inibidores de betalactamases, como o ácido clavulânico, tazobactam e sulbactam, pois atuam nas enzimas e permitem que os betalactâmicos exerçam sua atividade antimicrobiana (Drawz, 2010; Vrancianu, 2020).

As cefalosporinas constituem outra categoria de betalactâmicos, e foram isoladas de *Cephalosporium* spp. Existem cinco gerações de cefalosporinas e cada geração é administrada dependendo do contexto clínico (MacDougall, 2017). A primeira geração é constituída pela cefalotina, cefazolina, cefalexina, cefapirina, cefradina e cefadroxil; Apresentam atividade aumentada contra cocos sensíveis à meticilina e atividade média sobre algumas enterobactérias como *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *Proteus mirabilis*, porém não conseguem atravessar a barreira hematoencefálica. A segunda geração é subdividida em cefalosporinas verdadeiras e cefamicinas, as verdadeiras incluem a cefuroxima e o cefprozil, enquanto que as cefamicinas são constituídas pelo cefmetazol, cefoxitina, cefminox e cefotetan. Seu espectro de ação é mais amplo em espécies gram-negativas. De terceira geração tem-se cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefdinir, cefixima e cefoperazona; estas, são mais resistentes às betalactamases produzidas pelos bacilos gram-negativos (Livermore, 1995; Vrancianu, 2020).

Em relação à quarta geração de cefalosporinas, tem-se a inclusão de cefpiroma e cefepima que possuem espectro de ação mais amplo que as anteriores, além da notável estabilidade à ação de cefalosporinases mediadas por cromossomos e plasmídeos (Bush, 2016). A quinta geração é representada pela ceftarolina, ceftobiprole e ceftolozane. Estes, são eficazes contra contra cocos gram-positivos como *Streptococcus* spp. e *S. aureus* sensível ou resistente à meticilina (Stevens, 2014). Entretanto, outro composto foi recentemente acrescentado ao arsenal das cefalosporinas em 2019 pelo FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) dos EUA, o cefiderocol, sendo um dos betalactâmicos mais fortes e com estabilidade estrutural contra várias betalactamases das classes A, C, D e algumas da classe B, segundo a classificação estrutural de Ambler (Hsueh, 2019).

Cabe mencionar os monobactâmicos, outra categoria de betalactâmicos que são ativos contra bacilos gram-negativos e possuem baixa atividade sobre os microrganismos gram-positivos (Balsalobre, 2019). O aztreonam é um dos representantes desta categoria, sendo o único atualmente aprovado, pois é resistente a diversos tipos de betalactamases, além do seu uso contra bactérias gram-negativas como *P. aeruginosa* (Bush, 2016). Os carbapenêmicos também representam outra categoria de betalactâmicos. Inclui o imipenem, ertapenem, meropenem e doripenem que são mais potentes devido à sua alta resistência à maioria das betalactamases já existentes, incluindo as ESBLs. Além disso, apresentam a capacidade de penetração através da membrana externa e maior afinidade para quase todos os PBPs, como também serem potentes contra os microrganismos gram-positivos, gram-negativos, aeróbios e anaeróbios; (Papp-Wallace, 2011; Bush, 2016; Vrancianu, 2020).

Por fim, como última categoria dos betalactâmicos, tem-se os inibidores de betalactamases que podem ser utilizados em combinação com antibióticos para prevenir sua degradação por betalactamases (Drawz, 2010). O ácido clavulânico, um dos principais inibidores, é ativo contra a maioria das betalactamases de classe A (Vrancianu, 2020). Sulbactam e tazobactam, outros inibidores, são sulfonas de ácido penicilânico que apresentam atividade inibitória de betalactamase. Combinações diferentes de sulbactam com betalactâmicos, representados por ampicilina-sulbactam e cefoperazona-sulbactam apresentam atividade baixa contra produtores de ESBL pertencentes a cepas de *E. coli* e alta atividade contra *Pseudomonas* spp. (Rafailidis, 2009; Mohanty, 2005; Vrancianu, 2020). O brobactam é estruturalmente similar ao sulbactam e tazobactam, porém possui uma potência maior do que o ácido clavulânico contra as enzimas cefalosporinases cromossômicas (Melchior, 1991; Vrancianu, 2020). Outros inibidores foram introduzidos, como os inibidores de betalactamase não betalactâmicos. O avibactam, por exemplo, possui um mecanismo capaz de acilar o sítio ativo de serina betalactamases A sua combinação com ceftazidima também já foi aprovada para os casos complicados de infecções hospitalares. O sucesso do avibactam contribuiu diretamente no desenvolvimento do relebactam, que assim como os compostos à base de boronato representam um segundo andaime no desenvolvimento de inibidores de amplo espectro de serina betalactamases (Vrancianu, 2020; Tooke, 2019).

No entanto, como já mencionado anteriormente, esses microrganismos apresentam diferentes formas de evasão da ação bactericida dos betalactâmicos, sendo quatro mecanismos principais, como: i) expressão alterada/mutações nas PBPs; ii) ausência/redução na expressão das proteínas de membrana externa ou iii) superexpressão das bombas de efluxo; e iv) a produção de betalactamases; que representa o principal mecanismo de resistência utilizado pelas bactérias, em especial, pelas gram-negativas (Rahman *et al.*, 2018).

1.4 Resistência aos betalactâmicos pela produção de betalactamases

As betalactamases são enzimas responsáveis por degradar o anel betalactâmico antes da interação com as PBPs, sendo este o principal mecanismo molecular de resistência aos betalactâmicos em bactérias gram-negativas como *E. coli* e *K. pneumoniae*. (Lee, 2012; Rahman *et al.*, 2018; Bush, 2019). Dois sistemas são empregados para classificar as betalactamases, facilitando o seu estudo. O primeiro deles é chamado de classificação molecular de Ambler, o qual toma por base a estrutura molecular dessas enzimas, levando em consideração o sítio ativo e a sequência dos aminoácidos. A classificação de Ambler agrupa as betalactamases em quatro classes: A, B, C e D. As classes A, C e D agrupam betalactamases que contêm um resíduo serina no seu sítio ativo, responsável por realizar o ataque nucleofílico ao anel betalactâmico. A classe B utiliza do íon zinco para hidrolisar o anel e, por essa razão, são também denominadas metalo betalactamases (Ambler, 1980; Vrancianu, 2020). O segundo sistema de classificação é chamado de classificação funcional de Bush, Jacoby e Medeiros. Esse sistema classifica as betalactamases de acordo com o seu substrato e perfil de inibição, sendo então divididas em três grupos: o grupo 1 inclui cefalosporinases de classe C da classificação de estrutura molecular; o grupo 2 inclui as betalactamases das classes A e D, incluindo, entre outras, as penicilinases, oxacilinases e betalactamases de espectro estendido (ESBL) e carbapenemases; e o grupo 3 inclui as betalactamases da classe B, que requerem zinco para atividade, também conhecidas como metalobetalactamases (Bush *et al.*, 1995; Bush e Jacoby, 2010; Cornaglia, 2011; Vrancianu, 2020), conforme descrito na **Tabela 1**.

Tabela 1- Classificação das betalactamases de acordo com Bush, Jacoby e Medeiros (Adaptado de Bush e Jacoby, 2010)

Grupo Bush- Jacoby	Classe molecular Ambler	Substrato distintivo	Inibido por AC/TZB	Inibido por EDTA	Enzima(s) representativa(s)
1	C	Cefalosporinas	-	-	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Cefalosporinas	-	-	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilinas	+	-	PC-1
2b	A	Penicilinas e 1 ^{as} cefalosporinas	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Cefalosporinas de espectro estendido e monobactâmicos	+	-	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicilinas	-	-	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro estendido e monobactâmicos	-	-	TEM-50
2c	A	Carbenicilina	+	-	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbenicilina e cefepima	+	-	RTG-4
2d	D	Cloxacilina	Variável	-	OXA-1, OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro estendido	Variável	-	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenêmicos	Variável	-	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro estendido	+	-	CepA
2f	A	Carbapenêmicos	Variável	-	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B(B1)	Carbapenêmicos	-	+	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	B(B2)	Carbapenêmicos	-	+	CphA, Sfh-1

AC- ácido clavulânico; TZB- tazobactam.

A primeira betalactamase descrita codificada por elemento genético móvel foi identificada em *E. coli*, isolada de uma paciente grega chamada Temoniera, nome que inspirou a designação da enzima como TEM-1. (Datta, 1965). A disseminação pela transferência horizontal foi possibilitada por sua localização em plasmídeos e transposons. Esse tipo de enzima já foi descrito em outras espécies de *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria gonorrhoeae* (Pfeifer, 2010; Rawat, 2010). Da mesma forma, SHV-1 se tornou mundialmente disseminada (Silva e Lincopan, 2012). Mediante a prevalência e disseminação das

betalactamases, as cefalosporinas de terceira geração começaram a ser introduzidas na clínica na década de 80, tendo sua estrutura molecular resistente a ação das enzimas descritas anteriormente, porém a pressão seletiva causada pelo uso intensivo desses antibióticos favoreceu a emergência de cefalosporinases com espectro de ação estendido, de forma que, em 1983, foi descrita a SHV-2, uma ESBL, que difere em apenas um aminoácido da enzima SHV-1 (Knothe, 1983; Silva e Lincopan, 2012).

As ESBLs constituem um grupo importante de betalactamases, caracterizadas por hidrolisar penicilinas, cefalosporinas de primeira a quarta geração, além dos monobactâmicos. Não são capazes de hidrolisar as cefamicinas e os carbapenêmicos, mas, no geral, possuem susceptibilidade aos inibidores de betalactamases, como o ácido clavulânico (Bush *et al.*, 1995; Paterson e Bonomo, 2005; Bush e Jacoby, 2010). Dentre elas, as ESBLs do tipo TEM e SHV, como mencionado acima, estão diretamente relacionadas com variantes que distinguem somente em algumas substituições dos aminoácidos de, por exemplo, TEM-1 e SHV-1, e seus pontos isoelétricos que resultam em algumas alterações, como a capacidade de hidrolisar ceftazidima e cefotaxima, enquanto outras famílias como do tipo CTX-M, são mais diversas geneticamente (Bradford, 2001). Existe uma outra família de ESBLs, o tipo GES, que quando descritas foram subdivididas em duas categorias, a primeira em enzimas que eram ESBLs e a segunda naquelas que mostraram alguma atividade modesta de carbapenemase (Poirel, 2001).

A primeira descrição de ESBL na América Latina, foi realizada no Chile, sendo reportada pela presença de SHV-5 em *K. pneumoniae* (Gutmann, 1989; Silva & Lincopan, 2012). Na Alemanha, em 1990, Bauerfeind reportou a produção de uma cefalosporinase não pertencente às famílias TEM ou SHV, denominada CTX-M-1, no mesmo período de tempo houve relatos da enzima CTX-M-2 na Argentina (Bauerfeind, 1990; 1992; Quinteiros *et al.*, 2003; Radice *et al.*, 2002). No Brasil, a primeira enzima do tipo CTX-M foi descrita na década de 1990 (Bonnet *et al.*, 2000). Outras famílias de ESBL, como GES, têm sido identificadas em menor número, porém, substituições de aminoácidos no sítio ativo de ESBLs desse tipo podem aumentar seu espectro de ação contra carbapenêmicos (Jacoby, 2012; Rawat, 2010; Picão *et al.*, 2010).

As infecções por *Enterobacteriales* produtoras de ESBL ocorrem em taxas preocupantes em esfera global. Diversos países do mundo relatam que mais da metade das cepas de *E. coli* são resistentes à ceftriaxona, ou melhor, presuntivamente produtores de ESBL, incluindo o México

onde 58% das infecções são causadas por produtores de ESBL, 64% na China, 77% na Índia, 73% na Rússia e 77% na Nigéria (Tamma, 2021). No entanto, o CDC estima que de 2012 a 2017, houve um aumento de 53% na incidência das infecções por *Enterobacteriales* produtoras de ESBL nos EUA (CDDEP, 2015; CDC, 2019). A ANVISA estima de que em 2022 com os dados fornecidos por 1.526 hospitais acerca de infecções primárias da corrente sanguínea houve a densidade de incidência de 4 por 1000 cateter/dia, infecções do trato urinário que é uma das causas prevalentes de IRAS, a densidade de incidência com base nos dados de 1.525 hospitais foi de 3,5, e das infecções pulmonares foi de 12,5 com dados de 1.528 hospitais (ANVISA, 2022).

No contexto das infecções hospitalares, nos EUA, Jernigan e colaboradores (2020) conduziram um estudo de 2012-2017 acerca das infecções bacterianas multirresistentes levando em consideração a incidência de ESBL nos pacientes hospitalizados. Os autores observaram que 17% das infecções tiveram início nos hospitais, porém 83% tiveram início na comunidade; Além disso, os patógenos mais comuns nas infecções eram *Enterobacteriaceae* produtores de ESBL, representando 84% dos casos em 2017. Um adendo importante é que houve um aumento na incidência de *E. coli* produtora de ESBL sendo a atual protagonista dos 86% do aumento global na incidência de infecção por ESBL (Jernigan *et al.*, 2020). Assim, acredita-se que a colonização comunitária por ESBL possa ser uma possível rota de entrada de ESBL nos hospitais.

1.5 Colonização comunitária por *Enterobacteriales* produtoras de ESBL

A colonização comunitária por *Enterobacteriales* vem se tornando cada vez mais frequente. Apesar dos bacilos gram-negativos serem mais associados à IRAS, esses microrganismos não se restringem ao ambiente hospitalar e estão frequentemente associadas às infecções adquiridas na comunidade (IAC) (Nnadozie e Odume, 2019).

Alguns fatores influenciam e podem potencializar a colonização por esses microrganismos, como o uso de antimicrobianos, uma vez que afetam diferentes sistemas corpóreos e possuem diferentes vias de metabolização (McEwen, 2018). Como evidências, é visto que centenas de milhares de toneladas de antibióticos são produzidas por ano e caem no meio ambiente (O'Neill, 2015; Van Boeckel, 2015). Os resíduos das estações de tratamento e da indústria farmacêutica, quando tratados de forma errada, liberam elevadas concentrações de antimicrobianos nas águas de superfície (O'Neill, 2015; So, 2015; Aubertreau, 2017; Singer, 2016); e os metabólitos de

antimicrobianos atuam como constituintes do esgoto humano, esterco de gado e da aquicultura, junto com as bactérias fecais e os genes de resistência (Ruuskanen, 2016; Rizzo, 2013; Cabello, 2016).

Mediante a isso, foi observado que o saneamento básico precário também atua como facilitador para a transmissão indireta de bactérias entéricas entre residentes e viajantes que voltam para suas casas colonizados pelas bactérias resistentes adquiridas no ambiente comunitário (Walsh, 2011; Ashbolt, 2013), por isso, bactérias resistentes aos antimicrobianos são disseminadas em toda esfera mundial. Gu Y e colaboradores (2020) se concentraram na disseminação de bactérias resistentes aos antimicrobianos e na forma que os genes que determinam essa resistência são transmitidos para o meio ambiente, seja em fazendas de animais, instituições de saúde, farmacêuticas, comunidades ou estações de tratamento de esgoto; observou-se que esses genes podem se espalhar por meio da transferência horizontal entre diferentes cepas bacterianas (Gu, 2020; Jian, 2021).

As espécies gram-negativas produtoras de ESBL são comuns em ambientes hospitalares e comunitários (Bush e Jacoby, 2010). Entre as espécies da famílias *Enterobacteriaceae*, *E. coli* possui maior probabilidade de transmissão entre os animais e os humanos, sendo considerada bactéria resistente aos antimicrobianos associada à comunidade. Essa espécie é a principal causadora de infecções do trato urinário humano. Também pode ocasionar infecções sistêmicas e gastroenterite. Como bactéria comensal, coloniza o trato gastrointestinal de animais, incluindo humanos, além de estar presente no solo, plantas, vegetais e água (Rousham, 2018). Em 2020, Cerna e colaboradores mostraram que em ambulatórios na França, 1,6% das amostras isoladas de colonização comunitária de *E. coli* foram caracterizados como produtores ESBLs, enquanto que nos EUA foi observado cerca de 3,9% das amostras isoladas também como produtoras de ESBL (Rossignol, 2017; Doi Y., 2013; Zavala, 2020). Em Malawi, foi realizado um estudo demonstrando que 38% das espécies isoladas em ambientes comunitários foram identificadas como *E. coli* produtora de ESBL, sendo 29 de 39 amostras obtidas de *swab* retal e 4 de 8 de urina (Onduru, 2021).

Raffelsberger e colaboradores (2023), demonstraram que na Noruega houve uma prevalência de 3,3% de transporte gastrointestinal de *E. coli* produtoras de ESBL, em que as enzimas CTX-M representaram 97% das responsáveis pelos genes descritos entre as amostras isoladas de

portadores de ESBL. Foram descritos *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CTX-M-14} e *bla*_{CTX-M-27} *bla*_{SHV-12} nas cepas produtoras de ESBL sendo 3% já portadores de ESBL e 1,7% amostras clínicas obtidas (Raffelsberger, 2023). É notório que diversas condições estão associadas à disseminação de ESBL na comunidade, incluindo saneamento básico, higiene, consumo de antibióticos e o controle insuficiente da prevenção das infecções nas instituições de saúde (de Lauzanne, 2022). Oito comunidades africanas em Gana (2023) foram investigadas acerca da colonização intestinal com *Enterobacteriales* resistentes a cefalosporinas de terceira geração, 736 residentes foram incluídos nesse estudo; destes 371 (50,4%) eram portadores de *E. coli* (362) e/ou *K. pneumoniae* (9) resistentes a cefalosporinas de terceira geração. Além disso, grande parte das cepas de *E. coli* eram produtoras de ESBL (94,9%), enquanto que de todos os produtores de CTX-M, 95,7% eram *bla*_{CTX-M-15} (Obeng-Nkrumah, 2023). Além disso, a caracterização de *E. coli* e *K. pneumoniae* produtoras de ESBL coletadas durante o período de 2011 a 2014 em Ciudad Obregon, no México, indicaram que as principais cepas de ESBL que foram detectadas nos espécimes clínicos isolados possuíam *bla*_{CTX-M-15} e *bla*_{SHV-12}. (Miranda-Romero, 2017).

Apesar disso, no Brasil ainda são poucos os estudos que visem o âmbito comunitário relacionado a ESBL. Em 2021, no Rio de Janeiro, Tufic e colaboradores conduziram um estudo abordando como viagens contribuem para a colonização por bactérias produtoras de ESBL, em que 9% dos viajantes estavam colonizados por *Enterobacteriales* produtores de ESBL antes da viagem (Tufic-Garutti, 2021). Um outro estudo em 2022, no Rio de Janeiro, conduzido por Pinho Rodrigues e outros, abordou acerca da colonização em ambientes comunitários, e observaram que 8% de todos os isolados estavam colonizados por *E. coli* produtora de ESBL (de Pinho Rodrigues, 2022).

1.6 Disseminação de ESBL no ambiente

O despejo de resíduos antimicrobianos em matrizes aquáticas têm contribuído para a disseminação dos mecanismos de resistência, e vários países descrevem a presença de bactérias resistentes em rios e efluentes (Dhanji *et al.*, 2010; Fuentesfria *et al.*, 2010). A mobilização dos genes de resistência através de elementos genéticos móveis, como plasmídeos, transposons e integrons, têm íntima associação com a ampla disseminação das betalactamases; facilitando a troca genética entre diversas espécies bacterianas que, posteriormente, poderão colonizar

diferentes hospedeiros e ecossistemas e se disseminar por diferentes rotas (Weldhagen, 2004; Silva & Lincopan, 2012).

Na China, Zhuang e colaboradores (2021) conduziram um estudo global abordando os genes de resistência comumente encontrados em diferentes compartimentos ambientais. Nos ambientes hospitalares, os genes de resistência a multidrogas, glicopeptídeos e betalactâmicos (*mecA*, *vanA*, *vanB* e *bla*) foram amplamente descritos. Já em fazendas, estações de tratamento de águas residuais (ETARs), água e solo, os genes encontrados foram relacionados à resistência à sulfonamida e tetraciclina (*sul* e *tet*) (Zhuang, 2021). Apesar disso, já foram identificados genes que conferem resistência aos betalactâmicos em diferentes compartimentos, inclusive no Brasil, por exemplo, em porcos (Literak *et al.*, 2010), pássaros selvagens (Silva *et al.*, 2011), esgoto (Chagas *et al.*, 2011), rios (Fontes *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2014; de Araujo *et al.*, 2016), água potável (Madec *et al.*, 2016), resíduos de frango (Botelho *et al.*, 2015; Cardozo *et al.*, 2021), águas costeiras de recreação (Montezzi *et al.*, 2015; Paschoal *et al.*, 2017), águas residuais hospitalares e urbanas (Zagui *et al.*, 2020), primatas de vida livre (Zaniolo *et al.*, 2020) e aves (Patricio *et al.*, 2022).

2. JUSTIFICATIVA

Considerando que a resistência é um fator complicador para o tratamento de infecções, sobretudo em ambientes nosocomiais, mas também na comunidade; e que cepas resistentes já foram descritas em diversos compartimentos ambientais, como na esfera animal, tanto animais de companhia quanto de criação e silvestres, produtos alimentícios, e solos e matrizes aquáticas; e que as espécies pertencentes à ordem *Enterobacterales* possuem protagonismo neste cenário, é que este estudo foi desenhado.

O protagonismo da ordem *Enterobacterales*, deve-se, em parte, à sua capacidade de acumular mecanismos de resistência. Neste contexto, a resistência aos betalactâmicos recebe destaque, sobretudo pela produção de betalactamases, dentre elas, as ESBL. Entretanto, a resistência a outras classes de antimicrobianos não deve ser negligenciada. Como mencionado anteriormente, as enterobactérias são microrganismos que ocasionam prejuízos socioeconômicos relevantes, sendo fundamental a adoção de medidas mitigadoras para frear o avanço da resistência e seus agravantes. No entanto, pouco se sabe sobre os impactos dessa disseminação de cepas resistentes, tornando necessária uma investigação mais aprofundada nesse cenário, especialmente na região metropolitana do Rio de Janeiro, onde poucos estudos abordam a colonização comunitária. Essa pesquisa permitirá saber quais espécies pertencentes à ordem *Enterobacterales* são comumente associadas à colonização comunitária de ESBL, bem como a caracterizá-las fenotípica e genotípicamente. E, esse tipo de estudo pode contribuir para que haja maior compreensão do fenômeno de resistência pela produção de ESBL e, no futuro, apoiar medidas para seu controle.

3. OBJETIVOS

Caracterizar microbiologicamente cepas pertencentes à ordem *Enterobacterales* produtoras de ESBL envolvidas na colonização do trato gastrointestinal de indivíduos que buscam pronto atendimento.

3.1 Etapas

- Formar uma coleção de amostras de *Enterobacterales*, e determinar o perfil fenotípico da produção de ESBL;
- Caracterizar as amostras quanto aos genes ESBL relacionados os fenótipos observados nas cepas obtidas no estudo;
- Caracterizar as amostras produtoras de ESBL quanto ao perfil de susceptibilidade a outras classes de antimicrobianos de importância clínica;
- Descrever os grupos filogenéticos das amostras identificadas como *E. coli* produtoras de ESBL encontradas nos espécimes estudados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostras bacterianas

A coleção bacteriana incluída no estudo foi oriunda de um estudo do grupo do Laboratório de Investigação em Microbiologia Médica (LIMM). Esse estudo foi realizado entre novembro de 2021 e dezembro de 2022. Indivíduos sem histórico de internação nos últimos seis meses, e que buscavam atendimento de emergência em dois hospitais — um público e privado — localizados na região metropolitana do Rio de Janeiro, foram convidados a participar do estudo. Esses voluntários forneceram um *swab* retal auto coletado. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), conforme o **Anexo I**, sob o nº 46762621.2.0000.5455. Os espécimes clínicos obtidos foram aplicados em ágar TSA (do inglês, *Trypticase Soy Agar*) de forma a formar um *spot*, para o controle da viabilidade celular do espécime clínico. Então, o *swab* foi semeado em ágar MacConkey acrescido de ceftriaxona (1,5µg/mL; MCRO) e a placa foi incubada a 35 ± 2 °C, durante 18-24 horas, em aerobiose. O crescimento observado foi replicado em outras três pressões seletivas: cefepima (16µg/mL; CPM16), cefoxitina (32µg/mL; FOX32) e imipenem (4µg/mL; IPM4), empregando a técnica *replica plating*. Como controle da técnica foram utilizadas duas placas sem acréscimo de antimicrobiano. O presente estudo foi direcionado para as amostras de *Enterobacterales* obtidas da pressão seletiva CPM16. As culturas foram inspecionadas e dois representantes de cada morfotipo foram subcultivados e submetidos às análises posteriores. As amostras bacterianas obtidas foram armazenadas em meio *Skim Milk* com 20% de glicerol a -20°C no LIMM.

4.2 Confirmação da identificação das amostras

A identificação das amostras foi realizada por MALDI-TOF MS (do inglês, *Matrix-Assisted Laser Desorption/ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry*), com o auxílio do aparelho Microflex LT e o programa *software Biotyper 3.0*, mediante as instruções do fabricante (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). As amostras identificadas como pertencentes à ordem *Enterobacterales* e com o *score* entre 2-3 seguiram para a detecção fenotípica da produção de ESBL.

4.3 Detecção fenotípica da produção de ESBL

Para confirmação do fenótipo da produção de ESBL das amostras de *Enterobacteriales* que foram recuperadas de CPM16, realizou-se o teste de disco-aproximação. Para cada amostra foi utilizada uma suspensão de cultura recente após crescimento por 18-24 horas a 35 ± 2 °C, em aerobiose em 3 mL de solução salina (NaCl - 0,85%) padronizadas de acordo com o padrão 0,5 da escala McFarland, que corresponde a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC)/mL. Com *swabs* estéreis, foi realizada a semeadura da suspensão, de forma confluyente em placas de Petri (90x15mm) contendo 20 mL de ágar Mueller-Hinton. Em seguida, o disco de amoxicilina/ácido clavulânico (30/10 µg) foi disposto no centro da placa de Petri, e os discos de aztreonam (30 µg), cefepima (30 µg), ceftazidima (30 µg), ceftriaxona (30 µg) e cefoxitina (30 µg) (todos Cefar, São Paulo, Brasil) foram dispostos a 25 mm de distância do disco central. Em seguida, houve a incubação da placa a 35 ± 2 °C, durante 16-18 horas, em aerobiose.

As cepas que apresentaram zonas fantasmas ou distorções no padrão do crescimento bacteriano na região que entre o disco contendo o ácido clavulânico e o substrato betalactâmico foram consideradas produtoras de ESBL, a cefoxitina foi inserida também como marcador dessa produção, visto que ESBL não hidrolisa esse antimicrobiano. As cepas *E. coli* ATCC 25922 e *K. pneumoniae* ATCC 700603 foram usadas como controles negativo e positivo da produção de ESBL, respectivamente (Jarlier et al., 1988).

4.4 Obtenção do DNA bacteriano

O DNA das amostras anteriormente identificadas e que apresentaram um fenótipo sugestivo da produção de ESBL foi extraído e utilizado como molde nas reações de PCR (do inglês *Polymerase Chain Reaction*) para amplificar o gene codificador da respectiva ESBL. Para isso, as amostras em cultura fresca foram suspensas em água destilada até que a turbidez fosse compatível com o padrão 0,5 da escala de McFarland. Essa suspensão foi adicionada à mistura da PCR. A obtenção do DNA foi possível após o aquecimento feito na primeira etapa da termociclagem.

4.5 Detecção dos genes codificadores de ESBL

Os genes codificadores de ESBL foram pesquisados por meio de PCR multiplex para os genes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} e *bla*_{GES} e simplex para o gene *bla*_{CTX-M} dos grupos 1/2, 8 e 9. Uma reação foi realizada para a detecção das famílias de genes codificadores das betalactamases *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} e *bla*_{GES}; e a outra, para as variantes do gene codificador de ESBL: *bla*_{CTX-M} (Montezzi, 2014). Após identificar o tipo de ESBL presente nas amostras testadas foi feita a confirmação do resultado obtido para cada amostra, por meio de PCR simplex para cada gene positivo na PCR multiplex. Os iniciadores, a termociclagem, os alvos e os tamanhos dos amplicons esperados serão descritos na **Tabela 2**. O volume final da reação foi 10µL. Para cada amostra foram usados 5µL de GoTaq® G2 Green Master Mix (Promega®), 5 pmol de cada iniciador (0,5µL de soluções a 10pmol/µL) e 1µL de DNA e H₂O livre de DNase. Os controles utilizados para a PCR multiplex para os genes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} e *bla*_{GES} foram as cepas bacterianas de *Enterobacter cloacae complex* 998 (amostra 30) e *Enterobacter asburiae* (amostra 18), respectivamente. Como controles para os genes *bla*_{CTX-M}, as cepas utilizadas foram *E. coli* f609 (amostra 10) para *bla*_{CTX-M} do grupo 1/2, f87 (amostra 3) para *bla*_{CTX-M} do grupo 8 e *Enterobacter cloacae complex* 998 para *bla*_{CTX-M} do grupo 9 (Botelho, 2012).

Tabela 2 - Oligonucleotídeos iniciadores para a detecção de genes envolvidos na produção de ESBL.

Iniciadores	Sequência 5'-3'	Tamanho do produto (pb)	Alvo	Condições de ciclagem	Referência
Single					
mCTX 1/2-F	ATGTGCAGYACCAGTAA	512	<i>blaCTX-M</i> grupo 1 e 2	Desnaturação inicial: 94°C/3' 35 ciclos de 94°C/30'' - 51°C/1' - 72°C/2' - Extensão final: 72°C/5'	Adaptado de Montezzi, 2014
mCTX 1/2-R	CGCTGCCGGTTTTATCSCCC				
mCTX 8-F	AACRRCAGACGCTCTAC	333	<i>blaCTX-M</i> grupo 8		
mCTX 8-R	TCGAGCCGGAASGTGTAT				
mCTX 14-F	GGTGACAAAGAGARTGCAACGGAT	576	<i>blaCTX-M</i> grupo 9		
mCTX 14-R	TTACAGCCCTTCGGCGATGA				
Multiplex					
mTEM-F	CCCTTATCCCTTTYTTGCGG	650	<i>blaTEM</i>	Desnaturação inicial: 95°C/10' 30 ciclos de 95°C/30'' - 56°C/30'' - 72 oC/45'' - Extensão final: 72°C/10'	Montezzi, 2014
mTEM-R	AACCAGCCAGCCWGAAGG				
mGES-F	AACCAGCCAGCCWGAAGG	750	<i>blaGES</i>		
mGES-R	CCGTGCTCAGGATGAGTTG				
mSHV-F	CTTGACCGCTGGGAAACGG	200	<i>blaSHV</i>		
mSHV-R	AGCACGGAGCGGATCAACGG				

pb - pares de base

4.6 Tipificação quanto ao grupo filogenético

A tipificação das amostras identificadas como *E. coli* foi realizada através de PCR multiplex para os genes *arpA*, *chuA*, *yjaA* e *tspE4.C2*. Os iniciadores, a termociclagem, os alvos e os tamanhos dos amplicons esperados estão descritos na **Tabela 3**. O volume final da reação foi de 10µL e para cada amostra foram utilizados 5µL de GoTaq® G2 Green Master Mix (Promega®), 0,5µL de cada iniciador (20pmol/µL) e 1µL de DNA. O controle utilizado para a PCR multiplex para os genes já citados foi *E. coli* ATCC 25922. Realizamos esta tipificação com o intuito de diminuir a quantidade de amostras identificadas como *E. coli*, visto que poderia haver a presença de clones em um mesmo indivíduo.

A eletroforese da amplificação dos produtos dessa PCR foi realizada conforme descrito no **item 4.9**, em um gel preparado a 2%. A interpretação do resultado foi feita a partir do genótipo quádruplo correspondente aos quatro genes em cada amostra testada, e assim, foi atribuído um filogruppo pela marcação de ausência ou presença dos genes na seguinte ordem: *arpA*, *chuA*, *yjaA* e *TspE4.C2*, conforme descrito no **Tabela 4** (Clermont *et al.*, 2000, 2004, 2013).

Tabela 3- Lista de genes utilizados para a tipificação quanto ao grupo filogenético

Iniciadores	Sequência 5'-3'	Tamanho do produto (pb)	Alvo	Condições de ciclagem	Referência
		Multiplex			
chuA.1b ¹	ATGGTACCGGACGAACCAAC	288	<i>chuA</i>	Desnaturação inicial: 94°C/4' 30 ciclos de 94°C/5'' - 59°C/20'' - Extensão final: 72°C/5'	Clermont, 2013 ¹ ; 2000 ² ; 2004 ³
chuA.2 ¹	TGCCGCCAGTACCAAAGACA				
yjaA.1b ¹	CAAACGTGAAGTGTGTCAGGAG	211	<i>yjaA</i>		
yjaA.2b ¹	AATGCGTTCCTCAACCTGTG				
TspE4.C2.1b ¹	CACTATTCGTAAGGTCATCC	152	<i>TspE4.C2</i>		
TspE4.C2.2b ²	AGTTTATCGCTGCGGGTTCGC				
AceK.f ¹	AACGCTATTCGCCAGCTTGC	400	<i>ArpA</i>		
ArpA.1r ³	TCTCCCCATACCGTACGCTA				

pb - pares de bases

Tabela 4- Interpretação do resultado para determinação do grupo filogenético de *E. coli* (Adaptado de Clermont, 2013)

<i>arpA</i>	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	<i>TspE4.C2</i>	Filogrupo
+	+	+	+	U
+	+	+	-	E ou Clado I
+	+	-	+	D ou E
+	+	-	-	D ou E
+	-	+	+	U
+	-	+	-	A ou C
+	-	-	+	B1
+	-	-	-	A
-	+	+	+	B2
-	+	+	-	B2
-	+	-	+	B2
-	+	-	-	F
-	-	+	+	U
-	-	+	-	Clado I ou II
-	-	-	+	U
-	-	-	-	U

4.7 Seleção das amostras de *E. coli* para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

A seleção das cepas de *E. coli* para realização do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos foi realizada mediante a análise do perfil genotípico de genes codificadores de ESBL em conjunto com a tipificação quanto ao grupo filogenético de cada amostra oriunda de cada indivíduo incluído no estudo.

4.8 Eletroforese

Os produtos amplificados nas PCRs realizadas foram observados por meio de eletroforese em gel de agarose (Kasvi, Espanha) a 1,5%, em uma cuba horizontal, em 100 volts no período de

45 a 100 minutos, contendo o tampão tris-borato EDTA (TBE) 0,5X, corado com brometo de etídio (0,5%) (Sigma, St Louis, EUA) e posteriormente, revelados com o auxílio da luz UV (ultravioleta) do ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare Life Sciences, São Paulo, Brasil). O controle do tamanho molecular utilizado foi um marcador de 100pb (Sinapse, EUA).

4.9 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA)

O antibiograma das amostras foi realizado e interpretado de acordo com as recomendações do CLSI (2023), pelo método de disco difusão. Para esse teste, foram preparadas suspensões das culturas puras recentes de cada amostra em 3 mL de solução salina (NaCl - 0,85%) (Isofar, Brasil) de turbidez compatível com o padrão 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Essa suspensão foi inoculada em placa de Petri (140x15mm) contendo 55 mL de ágar Mueller-Hinton de forma a obter crescimento confluyente. Em até 15 minutos após a semeadura os discos foram alocados na superfície do meio semeado. Os controles usados no teste foram as cepas de *E.coli* ATCC 25922 e de *P. aeruginosa* ATCC 27853. Os discos testados (Cefar) foram: ácido nalidíxico (30µg), amicacina (30µg), ampicilina (10µg), ciprofloxacina (5µg), cloranfenicol (30µg), ertapenem (10µg), fosfomicina (50µg), gentamicina (10µg), meropenem (10µg), nitrofurantoína (300µg), sulfametoxazol/trimetoprim (23,75/1,25µg) e tetraciclina (30µg). As placas foram incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, durante o período de 16-18 horas em aerobiose. Para a espécie *E. coli*, os discos utilizados foram os mesmos, exceto pela substituição de tetraciclina (30µg) por tigeciclina (15µg), e interpretação do resultado de acordo com as recomendações do BrCAST (2023) para o disco substituído.

5. RESULTADOS

5.1 Amostras bacterianas e confirmação da identificação das amostras

No estudo foram incluídos 228 indivíduos. 104 *swabs* retais apresentaram crescimento na pressão seletiva inicial por ceftriaxona. Após a realização do *replica plating*, 85 *swabs* continuaram apresentando crescimento na pressão seletiva CPM16, e foram recuperadas 289 cepas. Destas, 195 foram pertencentes à ordem *Enterobacteriales*, sendo 147 *E. coli* oriundas de 42 indivíduos, 15 *K. pneumoniae* oriundas de sete indivíduos, 15 *H. alvei* oriundas de quatro indivíduos, quatro *P. stuartii* de um indivíduo, quatro *Enterobacter cloacae* de três indivíduos, três *Enterobacter bugandensis* de um indivíduo, duas *Kluyvera ascorbata* de um indivíduo, duas *Morganella morganii* de um indivíduo, dois *Citrobacter freundii* de um indivíduo e uma *K. aerogenes* de um indivíduo. Além disso, 94 amostras que foram recuperadas da pressão seletiva citada, foram identificadas como não pertencentes à ordem *Enterobacteriales*, sendo três *Achromobacter insolitus* de um indivíduo, um *Achromobacter mucicolens* de um indivíduo, dois *Achromobacter xylosoxidans* de dois indivíduos, 12 *Acinetobacter baumannii* de três indivíduos, seis *Acinetobacter haemolyticus* de três indivíduos, dois *Acinetobacter johnsonii* de dois indivíduos, oito *Acinetobacter nosocomialis* de um indivíduo, cinco *Acinetobacter pittii* de dois indivíduos, seis *Acinetobacter soli* de um indivíduo, um *Ochrobactrum anthropi* de um indivíduo, quatro *Ochrobactrum intermedium* de dois indivíduos, 27 *Pseudomonas aeruginosa* de 11 indivíduos, uma *Pseudomonas alcaliphila* de um indivíduo, uma *Pseudomonas fluorescens* de um indivíduo, duas *Pseudomonas guariconensis* de um indivíduo, cinco *Pseudomonas putida* de quatro indivíduos e sete *Stenotrophomonas maltophilia* de cinco indivíduos.

5.2 Detecção fenotípica da produção de ESBL

Foi realizado o teste fenotípico para as 195 cepas da ordem *Enterobacteriales* que foram recuperadas na cultura sob pressão seletiva por cefepima. Desta coleção, 161 cepas isoladas de 47 voluntários apresentaram fenótipo positivo para a produção de ESBL, representando uma prevalência de 20,6% na população estudada. A produção de ESBL foi observada com maior frequência na espécie *E. coli* (140, 87%), seguida por *K. pneumoniae* (14, 8,7%), *P. stuartii* (4, 2,48%), *C. freundii* (2, 1,24%) e *H. alvei* (1, 0,62%).

5.3 Detecção dos genes codificadores de ESBL

Todas as amostras com fenótipo positivo para a produção de ESBL apresentaram a amplificação de um ou mais genes codificadores dessas enzimas, com exceção de uma amostra de *E. coli* de um indivíduo que, apesar do fenótipo positivo, não foi detectado nenhum gene codificador de ESBL entre os testados.

O gene codificador de ESBL observado na coleção estudada com maior frequência foi *bla*_{CTX-M1/2} (150, 93,1%), *bla*_{CTX-M8} (47, 29,2%) e *bla*_{CTX-M9}(37, 23%). Foram encontrados 17 perfis, conforme a **Tabela 5**, considerando os genes codificadores de ESBL identificados. Na maioria das cepas que apresentaram o fenótipo de ESBL foi amplificado um gene que necessariamente está relacionado com esse fenótipo, exceto, nos casos em que houve amplificação de *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV} visto que os amplicons não foram sequenciados.

Tabela 5 - Perfil genotípico de *Enterobacteriales* recuperadas em CPM16 e positivas no teste fenotípico

Perfil	Indivíduo (número de amostras)	Genes codificadores de ESBL	Espécies bacterianas
1	T3 (1)	<i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like e <i>bla</i> _{CTX-M8} like	<i>K. pneumoniae</i> (1)
2	T3 (1); T23 (1); CP019 (1); CP126 (2)	<i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like	<i>K. pneumoniae</i> (5)
3	T9 (2); CP019 (2); CP027 (1); CP174 (4)	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M1/2} e <i>bla</i> _{CTX-M9} like	<i>E. coli</i> (9)
4	T2 (1); T18 (1); T9 (2); T11 (3); CP042 (1); CP053 (1); CP095 (2); CP097 (1); CP113 (1); CP165 (1)	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like e <i>bla</i> _{CTX-M8} like	<i>E. coli</i> (14)
4	T19 (2)	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like e <i>bla</i> _{CTX-M8} like	<i>P. stuartii</i> (2)
5	CP038 (2)	<i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like e <i>bla</i> _{CTX-M9} like	<i>K. pneumoniae</i> (2)
6	T21 (2)	<i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like e <i>bla</i> _{CTX-M8} like	<i>E. coli</i> (2)
6	CH016 (1)	<i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like e <i>bla</i> _{CTX-M8} like	<i>K. pneumoniae</i> (1)
7	T14 (3)	<i>bla</i> _{CTX-M1/2} like, <i>bla</i> _{CTX-M8} like e <i>bla</i> _{CTX-M9} like	<i>E. coli</i> (3)
8	T9 (5); T11 (2); CP019 (2); CP027 (3); CP040 (1); CP053 (2); CP099 (1); CP113 (2); CP160 (3); CP161 (2)	<i>bla</i> _{TEM} e <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like	<i>E. coli</i> (23)
8	T19 (1)	<i>bla</i> _{TEM} e <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like	<i>P. stuartii</i> (1)
9	CP019 (4)	<i>bla</i> _{TEM} e <i>bla</i> _{CTX-M9} like	<i>E. coli</i> (4)
10	CP038 (2)	<i>bla</i> _{SHV} e <i>bla</i> _{CTX-M9} like	<i>K. pneumoniae</i> (2)
11	T18 (1)	<i>bla</i> _{SHV} e <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like	<i>E. coli</i> (1)
11	CP126 (2); CH016 (1)	<i>bla</i> _{SHV} e <i>bla</i> _{CTX-M1/2} like	<i>K. pneumoniae</i> (3)
12	T14 (1); CP011 (4); CP027 (1); CP029 (1); CP170 (6); CP177 (2); CP186 (2)	<i>bla</i> _{CTX-M1/2} like e <i>bla</i> _{CTX-M9} like	<i>E. coli</i> (17)
13	T16 (2); T18 (1); T21 (2); T29 (4); CP026 (4); CP047 (2); CP043 (1); CP040 (1); CP058 (1); CP119 (1); CP165 (2)	<i>bla</i> _{CTX-M1/2} like e <i>bla</i> _{CTX-M8} like	<i>E. coli</i> (20)
13	CP167 (2)	<i>bla</i> _{CTX-M1/2} like e <i>bla</i> _{CTX-M8} like	<i>C. freundii</i> (2)
14	CP143 (1)	<i>bla</i> _{SHV}	<i>Hafnia alvei</i> (1)
15	CP160 (1)	<i>bla</i> _{TEM}	<i>E. coli</i> (1)
15	T19 (1)	<i>bla</i> _{TEM}	<i>P. stuartii</i> (1)

Perfil	Indivíduo (número de amostras)	Genes codificadores de ESBL	Espécies bacterianas
16	CP043 (1)	<i>bla</i> _{CTX-M8} like	<i>E. coli</i> (1)
17	T3 (2); CH003 (2); CP011 (1); CP029 (3); CP036 (6); CP040 (1); CP042 (1); CP049 (2); CP065 (7); CP088 (3); CP113 (2); CP119 (5); CP152 (4); CP158 (2); CP160 (1); CP163 (2)	<i>bla</i> _{CTX-M1/2} like	<i>E. coli</i> (44)

Indivíduos que apresentaram amostras com mais de um perfil foram sinalizados com cores correspondentes;

Indivíduos que apresentaram amostras com apenas um perfil permaneceram em preto.

5.4 Grupo filogenético

Todas as amostras obtidas da pressão seletiva CPM16 e identificadas como *E. coli* foram classificadas quanto ao grupo filogenético. Foi possível observar que, dentre as amostras positivas para ESBL, a maioria das amostras foram categorizadas como pertencente ao filogrupo A ou C, seguido dos filogrupos F, D ou E, B1, B2, A, Clado I ou II, E ou Clado I e U. Dentre as amostras que apresentaram fenótipo negativo para a produção de ESBL, os filogrupos observados foram A ou C e B2. As quantidades de cada grupo são descritas na **Tabela 6**.

Tabela 6- Caracterização dos grupos filogenéticos das amostras de *E. coli*

Grupo Filogenético	Número de amostras (%)
Amostras produtoras de ESBL	
A ou C	32 (22,85)
F	27 (19,28)
D ou E	26 (18,57)
B1	19 (13,57)
B2	15 (10,71)
A	14 (10)
Clado I ou II	4 (2,86)
E ou Clado I	2 (1,43)
U	2 (1,43)
Amostras não produtoras de ESBL	
A ou C	2 (33,3)
B2	4 (66,6)

5.5 Seleção das amostras de *E. coli* para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

Após a realização da pesquisa dos genes envolvidos com a produção de ESBL e determinação dos grupos filogenéticos, 82 amostras foram selecionadas entre as 140 amostras

identificadas como *E. coli* para a investigação do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos, conforme descrito no **ANEXO II**.

5.6 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

Foi realizado o teste de susceptibilidade para 103 amostras com fenótipo positivo para a produção de ESBL, e foram observados 69 perfis de resistência ou suscetibilidade reduzida aos antimicrobianos testados (**Tabela 7**). A maior frequência de resistência foi observada para o antimicrobiano ampicilina (100%), seguido por ceftriaxona (95,1%), cefotaxima (83,5%), ciprofloxacina (78,6%), ácido nalidíxico (69%), aztreonam (60,1%), sulfametoxazol+trimetoprima (57,2%), cefepima (49,5%), gentamicina (33%), amoxicilina/ácido clavulânico (23,3%), cloranfenicol (18,4%), nitrofurantoína (16,5%), tetraciclina (12,62%), fosfomicina (6,79%), cefoxitina (6,79%), ertapenem (0,97%) e tigeciclina (0,97%).

Tabela 7- Perfil de resistência ou susceptibilidade reduzida das amostras recuperadas em CPM16

Código	Perfil de resistência	Amostra(s)/Indivíduo(s)
1	AMC, CTX, CPM, ATM, CRO, GEN, SUT, TET, CIP, NAL, NIT, AMP	ACP233, ACP234, ACP235/ CP126
2	AMC, CTX, CPM, CRO, GEN, SUT, TET, CIP, NAL, CLO, NIT, AMP	CPN148/ T19
3	AMC, CTX, CPM, ATM, CRO, GEN, SUT, CIP, NAL, CLO, AMP	ACP30/ CP019 ; ACP288/ CP158
4	AMC, CTX, CPM, ATM, CRO, GEN, SUT, CIP, NIT, ETP, AMP	CPN175/ T23
5	CTX, CPM, ATM, CRO, SUT, TET, CIP, NAL, CLO, NIT, AMP	ACP46/ CP019
6	AMC, CTX, FOX, CPM, ATM, CRO, FOS, CIP, NAL, CLO, AMP	ACP287/ CP158
7	AMC, CTX, ATM, CRO, FOS, SUT, CIP, NAL, CLO, AMP	ACP41/ CP027
8	AMC, CTX, CPM, CRO, GEN, SUT, CIP, NAL, CLO, AMP	ACP204/ CP095
9	AMC, CTX, CPM, ATM, CRO, SUT, TET, CIP, NAL, AMP	CPN120/ T16
10	CTX, CPM, ATM, CRO, FOS, SUT, CIP, NAL, CLO, AMP	ACP43, ACP44/ CP027
11	CTX, CPM, ATM, CRO, GEN, SUT, TET, CIP, NAL, AMP	ACP232/ CP126
12	CTX, CPM, ATM, CRO, SUT, CIP, NAL, CLO, NIT, AMP	ACP285/ CP152
13	AMC, CTX, CPM, ATM, CRO, GEN, CIP, NAL, AMP	CHN1/ T2
14	CTX, ATM, CRO, FOS, SUT, CIP, NAL, CLO, AMP	ACP40/ CP027
15	CTX, CPM, ATM, CRO, SUT, CIP, NAL, CLO, AMP	ACP282/ CP152
16	AMC, CTX, FOX, SUT, TET, CIP, NAL, NIT, AMP	CHN21/ T3
17	AMC, CTX, CPM, ATM, CRO, SUT, CIP, NAL, AMP	ACP302/ CP161

Código	Perfil de resistência	Amostra(s)/Indivíduo(s)
18	AMP ,CTX, ATM, CRO, SUT, CIP, NAL, NIT, AMP	ACP405/ CP186
19	CTX, CPM, ATM, CRO, GEN, SUT, CIP, NAL, AMP	CHN 51,CHN55,CHN56/ T9 ; CHN226/ T11 ; ACP195, ACP196/ CH003 ; ACP 31/ CP019
20	CTX, CRO, GEN, SUT, CIP, NAL, CLO, AMP	ACP145/ CP042
21	CTX, CPM, ATM, CRO, GEN, SUT, CLO, AMP	ACP150/ CP053
22	CTX, ATM, CRO, GEN, SUT, CIP, NAL, AMP	ACP194/ CP088
23	CTX, CPM, CRO, SUT, TET, CIP, NAL, AMP	CPN119/ T16
24	CTX, FOX, CPM, ATM, CRO, SUT, CIP, AMP	ACP328/ CH016
25	CTX, CPM, ATM, GEN, SUT, CIP, NAL, AMP	CHN62/ T11
26	CTX, CRO, GEN, SUT, TET, CIP, NIT, AMP	ACP124, ACP129, ACP130, ACP132/ CP038
27	CTX, CPM, ATM, CRO, GEN, CIP, NAL, AMP	ACP45, ACP47/ CP019
28	CTX, ATM, CRO, SUT, CIP, CLO, NIT, AMP	ACP329/ CH016
29	AMC, CTX, CPM, ATM, CRO, NAL, AMP	CHN167/ T21
30	CTX, CPM, CRO, TGC, CIP, NAL, AMP	CPN143/ T18
31	CTX, ATM, CRO, FOS, CIP, NAL, AMP	CHN22/ T3
32	CTX, CPM, ATM, CRO, CIP, NAL, AMP	ACP137/ CP036 ; ACP184/ CP065 ; ACP213/ CP119
33	CTX, ATM, CRO, SUT, CIP, NAL, AMP	ACP4/ CP011 ; ACP357/ CP170
34	CTX, CRO, SUT, CIP, NAL, NIT, AMP	ACP100/ CP049
35	CTX, CRO, GEN, SUT, CIP, NAL, AMP	ACP347/ CP174
36	AMC, CTX, CPM, CRO, SUT, CIP, NAL	ACP349/ CP177
37	AMC, CTX, ATM, CRO, CIP, NAL, AMP	ACP207/ CP099
38	AMC, FOX, SUT, CIP, NAL, NIT, AMP	CHN20/ T3
39	CTX, CPM, ATM, CRO, GEN, CIP, AMP	ACP216/ CP119
40	CTX, CRO, GEN, CIP, NAL, AMP	CHN2/ T2
41	CTX, CRO, SUT, CIP, NAL, AMP	ACP105, ACP143/ CP040 ; ACP330/ CP170 ; ACP199/ CP088
42	CTX, ATM, CRO, CIP, NAL, AMP	ACP55, ACP71/ CP029 ; ACP147/ CP042 ; ACP109/ CP043 ; ACP152/ CP058
43	CTX, CPM, ATM, CRO, CIP, AMP	ACP214/ CP119
44	CTX, CPM, ATM, CRO, SUT, AMP	ACP208/ CP113
45	CTX, CRO, GEN, SUT, CLO, AMP	ACP151/ CP053
46	CTX, CPM, ATM, CRO, NAL, AMP	CHN168/ T21
47	CTX, ATM, SUT, CIP, NAL, AMP	ACP3/ CP011
48	AMP, CTX, CPM, ATM, CRO, FOS	ACP317/ CP163

Código	Perfil de resistência	Amostra(s)/Indivíduo(s)
49	CTX, CRO, GEN, CIP, NAL, AMP	CPN141, CPN142/ T18
50	GEN, SUT, CIP, NAL, NIT, AMP	CHN57/ T9
51	CTX, CPM, ATM, CRO, CLO, AMP	CHN204, CHN205/ T29
52	CTX, CPM, CRO, CIP, NAL, AMP	CPN149/ T19
53	CTX, CPM, SUT, CLO, AMP	ACP36/ CP036
54	CTX, CRO, SUT, NAL, AMP	ACP99/ CP049 ; ACP182/ CP065
55	CTX, CRO, CIP, NAL, AMP	CHN61, CHN64/ T11 ; ACP108/ CP043
56	CTX, CRO, SUT, CIP, AMP	ACP127/ CP036
57	AMC, CTX, CRO, CIP, AMP	ACP295/ CP160
58	CTX, CPM, ATM, CRO, AMP	ACP206/ CP097
59	AMC, CTX, CRO, SUT, AMP	ACP313/ CP167
60	CTX, ATM, CRO, NAL, AMP	ACP56/ CP029
61	CTX, ATM, CRO, SUT, AMP	ACP209/ CP113
62	CTX, CRO, CIP, AMP	ACP293, ACP305/ CP160 ; ACP323/ CP165
63	AMC, CTX, CPM, CRO	CPN135*, CPN136*/ T19
64	CTX, CRO, NAL, AMP	CHN171/ T21
65	CTX, CRO, SUT, AMP	ACP211/ CP113
66	CIP, NAL, AMP	CHN106, CHN108/ T14
67	CTX, CIP, AMP	ACP324/ CP165
68	CTX, CRO, AMP	ACP144/ CP040 ; ACP106/ CP047
69	AMC, AMP	ACP260/ CP143

*amostras que perderam a viabilidade e foram testadas apenas para os discos do teste fenotípico (AMC, ATM, CPM, CTX e CRO).

AMC - amoxicilina/ácido clavulânico, CRO- ceftriaxona, CTX- cefotaxima, CIP- ciprofloxacina, NAL- ácido nalidíxico, ATM- aztreonam, SUT- sulfametoxazol+trimetoprima, CPM- cefepima, GEN- gentamicina, CLO- cloranfenicol, NIT- nitrofurantoina, TET- tetraciclina, FOX- cefoxitina, ETP- ertapenem e TGC- tigeciclina.

5.7 Panorama geral da colonização nos voluntários investigados

Identificamos a presença de diferentes perfis genotípicos e de susceptibilidade para as cepas isoladas de cada indivíduo estudado. Foi possível observar também que os indivíduos T3 e CP019 apresentaram mais de uma espécie bacteriana, e conseqüentemente, mais de um perfil genotípico quanto aos genes codificadores de ESBL quanto a susceptibilidade aos

antimicrobianos de importância clínica e grupo filogenético em relação às amostras identificadas como *E. coli*, como descrito na **Tabela 8**.

Tabela 8- Panorama geral da colonização dos indivíduos incluídos no estudo

Indivíduo	Espécies isoladas	Perfil de enzimas codificadas pelos genes <i>bla</i>	Código do perfil de resistência
T2	<i>E. coli</i> (2)	TEM (2); CTX-M-1/2 (1); CTX-M-8 (2)	13; 40
	<i>E. coli</i> (2);	CTX-M-1/2 (2)	31
T3	<i>K. pneumoniae</i> (2)	SHV (2); TEM (2); CTX-M-1/2 (2); CTX-M-8 (1)	16; 38
T9	<i>E. coli</i> (4)	TEM (4); CTX-M-1/2 (4); CTX-M-8 (1); CTX-M-9 (2)	19; 50
T11	<i>E. coli</i> (4)	TEM(4); CTX-M-1/2 (4); CTX-M-8 (2)	19; 25; 55
T14	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2); CTX-M-8 (1); CTX-M-9 (2)	66
T16	<i>Citrobacter freundii</i> (2)	CTX-M-1/2 (2); CTX-M-8 (2)	9; 23
T18	<i>E. coli</i> (3)	TEM (1); SHV (1); CTX-M-1/2 (3); CTX-M-8 (2)	30; 49
T19	<i>Providencia stuartii</i> (4)	TEM (4); CTX-M-1/2 (3); CTX-M-8 (2)	2; 52; 63
T21	<i>E. coli</i> (3)	SHV (1); CTX-M-1/2 (3); CTX-M-8 (3)	29; 46; 64
T23	<i>K. pneumoniae</i> (1)	SHV (1); TEM (1); CTX-M-1/2 (1)	4
T29	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2); CTX-M-8 (2)	51
CP011	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2); CTX-M-8 (2)	33; 47
	<i>E. coli</i> (4)	TEM (4); CTX-M-1/2 (3); CTX-M-9 (3)	19; 27
CP019	<i>K. pneumoniae</i> (1)	SHV (1); TEM (1); CTX-M-1/2 (1)	5
CP026	<i>E. coli</i> (1)	CTX-M-1/2 (1); CTX-M-8 (1)	53
CP027	<i>E. coli</i> (4)	TEM (3); CTX-M-1/2 (4); CTX-M-9 (2)	7; 10; 14
CP029	<i>E. coli</i> (3)	CTX-M-1/2 (3); CTX-M-9 (1)	42; 60
CP049	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2); CTX-M-8 (2)	34; 54
CP047	<i>E. coli</i> (1)	CTX-M-1/2 (1); CTX-M-8 (1)	68
CP043	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (1); CTX-M-8 (2)	42; 55
CP038	<i>K. pneumoniae</i> (4)	SHV (4); CTX-M-1/2 (2); CTX-M-9 (4)	26
CP036	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2)	32; 56
CP042	<i>E. coli</i> (2)	TEM (1); CTX-M-1/2 (2); CTX-M8 (1)	20; 42
CP053	<i>E. coli</i> (2)	TEM (2); CTX-M-1/2 (2); CTX-M-8 (2)	21; 45
CP058	<i>E. coli</i> (1)	CTX-M-1/2 (1); CTX-M-8 (1)	42

Indivíduo	Espécies isoladas	Perfil de enzimas codificadas pelos genes <i>bla</i>	Código do perfil de resistência
CP065	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2)	32; 54
CP088	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (1)	22; 41
CH003	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2)	19
CP095	<i>E. coli</i> (1)	TEM (1); CTX-M-1/2 (1); CTX-M-8 (1)	8
CP097	<i>E. coli</i> (1)	TEM (1); CTX-M-1/2 (1); CTX-M-8 (1)	58
CP119	<i>E. coli</i> (3)	CTX-M-1/2 (3); CTX-M-8 (1)	32; 43
CP126	<i>K. pneumoniae</i> (4)	SHV (4); TEM (2); CTX-M-1/2 (4)	1; 11
CP143	<i>Hafnia alvei</i> (1)	SVH (1)	69
CP152	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2)	12; 15
CP158	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2)	3; 6
CP160	<i>E. coli</i> (3)	TEM (2); CTX-M-1/2 (2)	57; 62
CP161	<i>E. coli</i> (1)	TEM (1); CTX-M-1/2 (1)	17
CP165	<i>E. coli</i> (2)	TEM (1); CTX-M-1/2 (2); CTX-M-8 (2)	62; 67
CH016	<i>K. pneumoniae</i> (2)	SHV (2); CTX-M-1/2 (2); CTX-M-8 (1)	24; 28
CP174	<i>E. coli</i> (1)	TEM (1); CTX-M-1/2 (1); CTX-M-9 (1)	35
CP177	<i>E. coli</i> (1)	CTX-M-1/2 (1)	36
CP170	<i>E. coli</i> (2)	CTX-M-1/2 (2); CTX-M-9 (2)	33; 41
CP186	<i>E. coli</i> (1)	CTX-M-1/2 (1); CTX-M-9 (1)	18

* o perfil de resistência está descrito na Tabela 6.

6. DISCUSSÃO

Neste trabalho identificamos uma prevalência de 20,6% de *Enterobacterales* produtores de ESBL colonizando o trato gastrointestinal de indivíduos sem histórico recente de internação. *E. coli* foi a espécie encontrada produzindo ESBL com maior frequência, mas outras espécies foram identificadas com esse fenótipo. Observamos uma diversidade em relação aos genes envolvidos, porém com importância maior para *bla*_{CTX-M1/2}; e as amostras estudadas mostraram perfis de resistência a outras classes de antimicrobianos, não apenas aos betalactâmicos.

A prevalência observada para a produção de ESBL em amostras de colonização comunitária no nosso estudo foi maior do que o que já foi relatado no Rio de Janeiro. Tufic e colaboradores (2021) encontraram prevalência de 9% quanto à colonização do trato gastrointestinal; e em outro estudo, Pinho Rodrigues e colaboradores (2022) observaram que entre 2014-2016, os 6% das amostras isoladas de colonização foram *E. coli* produtoras de ESBL, e de 2017-2019, foram 10% das amostras isoladas. E comparando com o presente trabalho, observamos a prevalência de 18% das amostras isoladas como *E. coli*. Tamanha diferença pode ter diferentes causas: i) a coleta no pós pandemia no nosso caso, ao passo que os estudos citados envolveram coletas antes do período pandêmico; ii) a diferença na metodologia empregada para o processamento das amostras; e iii) o fato da população estudada no presente trabalho não ser saudável, diferente do estudo Tufic (2021) com viajantes e de Pinho (2022) de pessoas em consultas de rotina na clínica da família; iv) A presença de clones dentre as cepas de *E. coli* pode ser um fator que corrobora com a maior incidência de ESBL.

Na Itália, foi estudado que pacientes internados de agosto de 2019 a março de 2021 apresentaram que isolados de *E. coli* produtores de ESBL associados a infecções aumentaram de 9% para 11,5% pré e pós-pandemia, respectivamente (Shbaklo *et al.*, 2022). A pandemia de COVID-19 pode ter impulsionado a prevalência de bactérias multirresistentes na comunidade por causa da grande quantidade de antimicrobianos que foram utilizados neste período, um estudo realizado aqui no Brasil mostra que entre janeiro de 2014 e julho de 2021, azitromicina, amoxicilina e cefalexina representaram 67% das vendas das farmácias e drogarias (Del Fiol, 2022). O aumento da resistência no período pandêmico foi observado em hospitais brasileiros (Massarine *et al.*, 2023; Mesquita *et al.*, 2023), mas, sugere ser a primeira vez que é visto na comunidade no Brasil.

A abordagem que empregamos no processamento, a técnica de *replica plating* permite a análise de muitas colônias de uma única vez, e isso pode estar associado ao fato de termos encontrado outros microrganismos além de *E. coli*, apesar dessa espécie ter sido mais numerosa entre os produtores de ESBL. Os dados do presente trabalho demonstraram que 104 *swabs* retais apresentaram crescimento na pressão seletiva inicial em ceftriaxona, no entanto, quando replicados em cefepima, foi possível observar uma redução para 85 *swabs* com crescimento positivo; representando, ainda, um elevado número de *swabs* com cepas capazes de crescer em ambas as pressões seletivas empregadas. O uso da ceftriaxona permitiu selecionar as espécies de *Enterobacteriales* que apresentavam diferentes mecanismos de resistência às cefalosporinas de espectro estendido como as ESBL, AmpC e carbapenemases, além de outros mecanismos, como a superexpressão de bombas de efluxo (Ayele *et al.*, 2018). Além disso, a utilização da cefepima foi essencial para a triagem das amostras produtoras de ESBL, visto que cepas produtoras deste mecanismo são capazes de crescer na presença deste antimicrobiano, enquanto as cepas produtoras apenas de AmpC geralmente não apresentam êxito quando cultivadas na presença de cefepima (Jacoby, 2009). Sendo assim, na vigência de cefepima foi possível a recuperação de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, *P. stuartii* e *H. alvei*, *E. cloacae*, *E. bugandensis*, *K. ascorbata*, *M. morgani* e *K. aerogenes*; todas confirmadas para a produção de ESBL no teste fenotípico. Comumente os trabalhos que avaliam a resistência mediada por ESBL utilizam cefalosporinas de terceira geração como pressão seletiva (Luvsansharav *et al.*, 2011; Sasaki *et al.*, 2010; Ulstad *et al.*, 2016), mesmo quando em meios comerciais (Birgy *et al.*, 2012; Farra *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2022; Ostholm-Balkhed *et al.*, 2013; Vilar *et al.*, 2013). Portanto, a utilização dessas duas pressões seletivas subsequentes podem representar uma alta confiabilidade na triagem de ESBL do presente estudo.

Não podemos deixar de considerar que a maior prevalência encontrada pode ser resultado da população estudada. Tratam-se de pessoas que buscavam pronto atendimento e, portanto, não podem ser consideradas saudáveis. Embora não tenhamos a informação sobre o problema que fez com que essas pessoas buscassem atendimento, não podemos afastar a possibilidade da ocorrência de doenças que envolvam disbioses e medicação, no geral, por antimicrobianos (Huang *et al.*, 2020).

Quanto aos genes codificadores de ESBL, o tipo mais encontrado foi *bla*_{CTX-M}, o que corrobora com a literatura, uma vez que a disseminação de CTX-M é bastante descrita no âmbito intra e extra-hospitalar (Fontes *et al.*, 2011; Montezzi *et al.*, 2015; Chagas *et al.*, 2011). No Brasil, os genes codificadores de ESBL mais descritos em isolados de humanos em ambientes hospitalares e comunitários são *bla*_{CTX-M-2} e *bla*_{CTX-M-15}, especialmente na região Sudeste, além de *bla*_{CTX-M-8} (Rocha *et al.*, 2016). Nossos achados, portanto, corroboram a literatura, e sugerem que esses são os determinantes também mais frequentes na colonização comunitária. É importante ressaltar que no nosso estudo encontramos 17 perfis genotípicos, ou seja, diferentes combinações da ocorrência dos genes codificadores de ESBL. Isso pode ser explicado pela capacidade desses microrganismos transferirem seus genes horizontalmente entre cepas da mesma espécie ou entre espécies distintas, podendo levar ao acúmulo desses genes e elementos genéticos móveis e, conseqüentemente, codificar diferentes mecanismos de resistência (Serna, 2022). Porém, na nossa coleção tivemos uma amostra que apresentou fenótipo positivo e não houve detecção de nenhum gene codificador de ESBL dentre os testados e isso pode ser explicado pela presença alguma outra variante de ESBL que não testamos e que já foi descrita mas, existe a possibilidade de ser alguma nova variante e portanto merece maior investigação.

Quatro amostras de *E. coli* cresceram na vigência de cefepima, mas não apresentaram fenótipo positivo quanto à produção de ESBL. Para tentar explicar esse crescimento, avaliamos a produção de carbapenemase, por meio do eCIM (dados não mostrados), e observamos que essas amostras eram produtoras de MBL. Além disso, duas amostras de *E. coli* negativas no teste fenotípico se mostraram resistentes à cefoxitina, inserida como marcador no teste de disco-aproximação para a detecção de ESBL e observamos que essas amostras são produtoras de AmpC. Porém, para as outras 28 amostras negativas no teste fenotípico não conseguimos explicar qual o mecanismo de resistência que pode estar presente; Apesar dessas exceções e limitações citadas, houve êxito na seleção dos microrganismos de nosso interesse, inclusive isolamos *Enterobacterales* não *E. coli* produtoras de ESBL, como observado no estudo realizado na Etiópia, 17% dos isolados foram *K. pneumoniae* produtor de ESBL (Tola *et al.*, 2021).

Quanto ao grupo filogenético para observarmos a possível presença de clones entre as cepas de *E. coli*, foi visto que a maioria das amostras de *E. coli* foram classificadas como pertencentes ao filogruppo A ou C, seguido do filogruppo F, porém em outros estudos o filogruppo A

ou C é bastante evidenciado dentre as amostras, mas o filogrupo F não é tão evidenciado (Vading *et al.*, 2016). Em outros estudos, os filogrupos B2 e D foram encontrados especialmente em cepas de *E. coli* patogênicas e que causam infecções extraintestinais, enquanto as cepas comensais pertencem aos filogrupos A e B1, implicando que as cepas menos virulentas são colonizadores comuns entre os indivíduos incluídos no presente estudo (Vading *et al.*, 2016; Picard *et al.*, 1999).

Para a determinação da suscetibilidade das amostras obtidas, o cenário ideal seria a realização do antibiograma para toda a coleção. No entanto, a fim de reduzir os custos e o tempo despendido para a realização desta etapa, optamos por selecionar parte da coleção. Para tal, diferentes abordagens poderiam ser empregadas, como a tipificação das amostras por RAPD, mas todas essas abordagens envolveriam novos experimentos. Por isso, visto que verificamos uma ampla variedade de perfis genotípicos em conjunto com a determinação dos grupos filogenéticos, uma alternativa acessível e de fácil realização foi a seleção das cepas com base nesses perfis. Assim, foram selecionadas 82 de 140 amostras, resultando em 69 perfis de resistência após a realização do antibiograma. Dentre esses perfis, houve maior frequência de resistência à ampicilina, ceftriaxona, cefotaxima, ciprofloxacina, ácido nalidíxico, aztreonam e sulfametoxazol+trimetoprima. Porém, nosso estudo apresenta algumas limitações, especialmente na interpretação dos resultados dos testes, devido à necessidade de adotar duas diretrizes distintas (BrCAST e CLSI). Enquanto o CLSI considera categorias de resistente, intermediário e sensível, o BrCAST simplifica para apenas resistente e sensível, levando-nos a classificar as categorias intermediárias como tendo susceptibilidade reduzida devido a pequenas diferenças nos milímetros dos halos. Essas discrepâncias destacam as limitações associadas à utilização de diferentes diretrizes em nosso estudo.

Após a identificação das espécies, constatamos que as condições de armazenamento e cultivo desses microrganismos atenderam às nossas expectativas no que diz respeito à recuperação das espécies bacterianas com susceptibilidade reduzida à ceftriaxona, provenientes dos swabs retais de indivíduos sem histórico recente de internação. Um ponto relevante a ser destacado em relação às amostras identificadas como *P. stuartii* é que, durante a realização do teste de susceptibilidade, ocorreu a perda de viabilidade de duas dessas amostras. Essa circunstância explica o resultado obtido apenas com os discos utilizados para a detecção fenotípica da produção de ESBL.

Observamos também que diferente do que os artigos vêm mostrando sobre colonização comunitária, não é apenas *E. coli* que apresenta impacto importante como hospedeiro carreador de ESBL, sobretudo do tipo CTX-M1/2 neste fenômeno, já que outros gêneros bacterianos também foram encontrados no estudo, embora em menor frequência. Nosso trabalho chama a atenção para o potencial de indivíduos da comunidade atuarem como veículos para a inserção da resistência nas instituições de saúde.

É possível observar que alcançamos o principal objetivo do desenho do nosso estudo que foi caracterizar microbiologicamente cepas pertencentes à Ordem *Enterobacterales* produtoras de ESBL envolvidas na colonização comunitária do trato gastrointestinal de humanos, e isso permitiu observarmos que 20,6% de indivíduos colonizados por enterobactérias produtoras de ESBL, foram 18% de *E. coli* e 2,6% de outros gêneros, para isso determinamos as enterobactérias produtoras de ESBL que estavam envolvidas nessa colonização, caracterizamos quanto ao gene codificador de ESBL, quanto ao perfil de susceptibilidade a outras classes de antimicrobianos de importância clínica e fizemos a tipificação das cepas de *E. coli* encontradas nos espécimes clínicos quanto ao seu grupo filogenético. Os resultados encontrados são preocupantes, pois, tendo em consideração que o nosso estudo engloba indivíduos da comunidade, esse número é significativo, e reforça que a resistência bacteriana não está restrita ao ambiente hospitalar. As causas relacionadas à colonização comunitária podem incluir saneamento básico deficiente, uso de antimicrobianos, contato com animais de companhia; Meyer e colaboradores (2012), na Alemanha, mostraram que o contato com animais de companhia aumentou em quase sete vezes a chance de ser colonizado por *E. coli* produtora de ESBL (Meyer et al., 2012). Outros estudos são necessários para descrever os fatores de risco associados à colonização intestinal da população estudada por bactérias resistentes aos antimicrobianos.

O foco deste estudo foi ESBL mas, apresenta resistência a muitas classes de antimicrobianos, assim, estudos continuam sendo necessários e ajudariam a melhorar a compreensão sobre quais os mecanismos de resistência envolvidos, visto que se trata de uma possível rota de entrada da resistência aos hospitais e não sabemos até quando essa colonização se mantém; então é necessário estudos para rastreamento dessa população para observar se mantém essa colonização, fatores envolvidos e se houve a descolonização.

7. CONCLUSÕES

- A prevalência observada para a colonização comunitária por ESBL foi 20,6%. A espécie produtora de ESBL mais frequente nos episódios de colonização foram, principalmente *E. coli*, seguida por *K. pneumoniae*, *P. stuartii* e *C. freundii*;
- Os genes relacionados à produção de ESBL na colonização comunitária foram *bla*_{CTX-M-1/2} seguido de *bla*_{CTX-M-8} e *bla*_{CTX-M-9};
- As amostras produtoras de ESBL observadas colonizando os indivíduos que participaram do estudo apresentaram resistência a diferentes classes de antimicrobianos, além dos betalactâmicos, com destaque para as classes de quinolonas, aminoglicosídeos, e nitrofurantoína;
- Os principais grupos filogenéticos de *E. coli* relacionados com a colonização por produtoras de ESBL foram o A ou C, seguido dos filogrupos F e D.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., e S Gupta, R. (2016) Genome-based phylogeny and taxonomy of the “Enterobacteriales”: proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12), 5575–5599.
- Ak, O., Batirel, A., Ozer, S., & Çolakoğlu, S. (2011). Nosocomial infections and risk factors in the intensive care unit of a teaching and research hospital: a prospective cohort study. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 17(5), PH29–PH34. <https://doi.org/10.12659/msm.881750>
- Antimicrobial Resistance Collaborators (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet* (London, England), 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- ANVISA (2022). *Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde* nº 30.
- Ashbolt, N. J., Amézquita, A., Backhaus, T., Borriello, P., Brandt, K. K., Collignon, P., Coors, A., Finley, R., Gaze, W. H., Heberer, T., Lawrence, J. R., Larsson, D. G., McEwen, S. A., Ryan, J. J., Schönfeld, J., Silley, P., Snape, J. R., Van den Eede, C., & Topp, E. (2013). Human Health Risk Assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. *Environmental health perspectives*, 121(9), 993–1001. <https://doi.org/10.1289/ehp.1206316>
- Aubertheau, E., Stalder, T., Mondamert, L., Ploy, M. C., Dagot, C., & Labanowski, J. (2017). Impact of wastewater treatment plant discharge on the contamination of river biofilms by pharmaceuticals and antibiotic resistance. *The Science of the total environment*, 579, 1387–1398. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.136>
- Ayele, A. A., Gebresillassie, B. M., Erku, D. A., Gebreyohannes, E. A., Demssie, D. G., Mersha, A. G., & Tegegn, H. G. (2018). Prospective evaluation of ceftriaxone use in medical and emergency wards of Gondar university referral hospital, Ethiopia. *Pharmacology Research & Perspectives*, 6, e00383. <https://doi.org/10.1002/prp2.383>
- Balsalobre, L., Blanco, A., Alarcón, T., Capelo-Martinez, J. L., & Igrejas, G. (2019). Antibiotic Drug Resistance.
- Bauernfeind, A., Grimm, H., & Schweighart, S. (1990). A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection*, 18(5), 294–298. <https://doi.org/10.1007/BF01647010>
- Bauernfeind, A., Casellas, J. M., Goldberg, M., Holley, M., Jungwirth, R., Mangold, P., Röhnisch, T., Schweighart, S., & Wilhelm, R. (1992). A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella typhimurium*. *Infection*, 20(3), 158–163. <https://doi.org/10.1007/BF01704610>
- Berkner, S., Konradi, S., e Schönfeld, J. (2014) Antibiotic resistance and the environment—there and back again. *EMBO Reports*, 15(7), 740–744.

- Birgy, A., Cohen, R., Levy, C., Bidet, P., Courroux, C., Benani, M., Thollot, F., & Bingen, E. (2012). Community faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in French children. *BMC infectious diseases*, 12, 315. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-315>
- Bonnet, R., Sampaio, J. L., Labia, R., De Champs, C., Sirot, D., Chanal, C., & Sirot, J. (2000). A novel CTX-M beta-lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae isolated in Brazil. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(7), 1936–1942. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.7.1936-1942.2000>
- Botelho, L. A. B. (2012) Perfil de resistência aos antimicrobianos e produção de beta-lactamases em amostras de *Escherichia coli* isoladas de frango congelado comercializado no estado do Rio de Janeiro. Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 80f.
- Botelho, L. A. B., Kraychete, G. B., Costa e Silva, J. L., Regis, D. V. V., Picão, R. C., Moreira, B. M., e Bonelli, R. R. (2015) Widespread distribution of CTX-M and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in *Escherichia coli* from Brazilian chicken meat. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(2), 249–254.
- Bradford P. A. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*, 14(4), 933–951. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
- Brolund A. (2014). Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. *Infection ecology & epidemiology*, 4, 10.3402/iee.v4.24555. <https://doi.org/10.3402/iee.v4.24555>
- Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(6), 1211–1233. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.6.1211>
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(8), a025247. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>
- Bush, K. (2018). Past and present perspectives on β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62, e01076-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2019). Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors. *Nature reviews. Microbiology*, 17(5), 295–306. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0159-8>
- Cabello, F. C., Godfrey, H. P., Buschmann, A. H., & Dölz, H. J. (2016). Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalisation of antimicrobial resistance. *The Lancet. Infectious diseases*, 16(7), e127–e133. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00100-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00100-6)
- Carattoli A. (2001). Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Veterinary research*, 32(3-4), 243–259. <https://doi.org/10.1051/vetres:2001122>
- Cardozo, M. V., Liakopoulos, A., Brouwer, M., Kant, A., Pizauro, L. J. L., Borzi, M. M., Mevius, D., & de Ávila, F. A. (2021). Occurrence and Molecular Characteristics of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacterales Recovered From Chicken, Chicken Meat, and Human Infections in Sao Paulo State, Brazil. *Frontiers in microbiology*, 12, 628738. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628738>

- CDC (2013) Centers For Disease Control And Prevention. Antibiotic Resistance Threats in the United States. 114.
- CDC (2019) Centers For Disease Control And Prevention. Antibiotic Resistance Threats in the United States. 140.
- CDDEP. (2015). Center for Disease Dynamics, Economics e Policy. State of the World's Antibiotics. Washington: CDDEP.
- Celenza, G., Pellegrini, C., Caccamo, M., Segatore, B., Amicosante, G., & Perilli, M. (2006). Spread of bla(CTX-M-type) and bla(PER-2) beta-lactamase genes in clinical isolates from Bolivian hospitals. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 57(5), 975–978. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl055>
- Chen, H., Shu, W., Chang, X., Chen, J. A., Guo, Y., & Tan, Y. (2010). The profile of antibiotics resistance and integrons of extended-spectrum beta-lactamase producing thermotolerant coliforms isolated from the Yangtze River basin in Chongqing. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 158(7), 2459–2464. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.03.023>
- Clermont, O., Bonacorsi, S., e Bingen, E. (2000). Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 4555–4558.
- Clermont, O., Bonacorsi, S., e Bingen, E. (2004). Characterization of an anonymous molecular marker strongly linked to Escherichia colistrains causing neonatal meningitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 1770–1772.
- Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013). The Clermont Escherichia coli phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental microbiology reports*, 5(1), 58–65. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>
- CLSI (2023) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards or Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirtieth-Third Informational Supplement. CLSI document M100.
- Colomer-Lluch, M., Imamovic, L., Jofre, J., & Muniesa, M. (2011). Bacteriophages carrying antibiotic resistance genes in fecal waste from cattle, pigs, and poultry. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(10), 4908–4911. <https://doi.org/10.1128/AAC.00535-11>
- Cornaglia, G., Giamarellou, H., & Rossolini, G. M. (2011). Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams?. *The Lancet. Infectious diseases*, 11(5), 381–393. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70056-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70056-1)
- Datta, N., & Kontomichalou, P. (1965). Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature*, 208(5007), 239–241. <https://doi.org/10.1038/208239a0>
- de Araujo, C. F. M., Silva, D. M., Carneiro, M. T., Ribeiro, S., Fontana-Maurell, M., Alvarez, P., Asensi, M. D., Zahner, V., e Carvalho-Assef, A. P. D. (2016) Detection of Carbapenemase Genes in Aquatic Environments in Rio de Janeiro, Brazil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(7), 4380–4383.
- de Lauzanne, A., Sreng, N., Foucaud, E., Sok, T., Chon, T., Yem, C., Hak, V., Heng, S., Soda, M., Gouali, M., Nadimpalli, M., Inghammar, M., Rabenandrasana, M. A. N., Collard, J. M., Vray, M., Hello, S. L., Kerleguer, A., Piola, P., Delarocque-Astagneau, E., ... BIRDY study group (2022). Prevalence and factors associated with faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacterales among peripartum women in the community in Cambodia. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 77(10), 2658–2666. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac224>

- Del Fiol, F. S., Bergamaschi, C. C., De Andrade, I. P., Jr, Lopes, L. C., Silva, M. T., & Barberato-Filho, S. (2022). Consumption Trends of Antibiotics in Brazil During the COVID-19 Pandemic. *Frontiers in pharmacology*, 13, 844818. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.844818>
- de Pinho Rodrigues, K. M., de Rezende, D. F., Pinto, M. P., Dos Santos Tufic-Garutti, S., Ramalho, J. V. A., de Araújo Longo, L. G., de Carvalho Girão, V. B., de Oliveira, G. C., Vilar, L. C., & Moreira, B. M. (2022). High levels of gut carriage of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in community settings in Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian journal of microbiology* : [publication of the Brazilian Society for Microbiology], 53(1), 205–212. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00673-2>
- Dias, V. C., da Silva, V. L., Firmo, E. de O., Bastos, L. Q. de A., Bastos, A. N., Bastos, R. V., e Diniz, C. G. (2012). Distribution of ESBL-producing enterobacteria associated to community-acquired monomicrobial urinary tract infections and antimicrobial susceptibility trends over a 9-year period. *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)*, 24(3), 178–181.
- Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. (2010). Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clinical microbiology reviews*, 23(1), 160–201. <https://doi.org/10.1128/CMR.00037-09>
- Duszynska, W., Rosenthal, V. D., Szczesny, A., Zajackowska, K., Fulek, M., & Tomaszewski, J. (2020). Device associated -health care associated infections monitoring, prevention and cost assessment at intensive care unit of University Hospital in Poland (2015-2017). *BMC infectious diseases*, 20(1), 761. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05482-w>
- Farra, A., Frank, T., Tondeur, L., Bata, P., Gody, J. C., Onambele, M., Rafai, C., Vray, M., & Breurec, S. (2016). High rate of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in healthy children in Bangui, Central African Republic. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 22(10), 891.e1–891.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.07.001>
- Fleming A. (1929). On the Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium*, with Special Reference to their Use in the Isolation of *B. influenzae*. *British journal of experimental pathology*, 10(3), 226–236.
- Fontes, L. C., Neves, P. R., Oliveira, S., Silva, K. C., Hachich, E. M., Sato, M. I. Z., e Lincopan, N. (2011) Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* Coproducing Metallo- β -Lactamase SPM-1 and 16S rRNA Methylase RmtD1 in an Urban River. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(6), 3063–3064.
- Gu, Y., Shen, S., Han, B., Tian, X., Yang, F., & Zhang, K. (2020). Family livestock waste: An ignored pollutant resource of antibiotic resistance genes. *Ecotoxicology and environmental safety*, 197, 110567. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110567>
- Gutmann, L., Ferré, B., Goldstein, F. W., Rizk, N., Pinto-Schuster, E., Acar, J. F., & Collatz, E. (1989). SHV-5, a novel SHV-type beta-lactamase that hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins and monobactams. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 33(6), 951–956. <https://doi.org/10.1128/AAC.33.6.951>
- Hawkey, P. M., & Jones, A. M. (2009). The changing epidemiology of resistance. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 64 Suppl 1, i3–i10. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp256>
- Holmes, A. H., Moore, L. S., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., Guerin, P. J., & Piddock, L. J. (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *Lancet (London, England)*, 387(10014), 176–187. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00473-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00473-0)

- Holten, K. B., & Onusko, E. M. (2000). Appropriate prescribing of oral beta-lactam antibiotics. *American family physician*, 62(3), 611–620.
- Hsueh, S. C., Lee, Y. J., Huang, Y. T., Liao, C. H., Tsuji, M., & Hsueh, P. R. (2019). In vitro activities of cefiderocol, ceftolozane/tazobactam, ceftazidime/avibactam and other comparative drugs against imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia*, all associated with bloodstream infections in Taiwan. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 74(2), 380–386. <https://doi.org/10.1093/jac/dky425>
- Huang, Y. S., Lai, L. C., Chen, Y. A., Lin, K. Y., Chou, Y. H., Chen, H. C., Wang, S. S., Wang, J. T., & Chang, S. C. (2020). Colonization With Multidrug-Resistant Organisms Among Healthy Adults in the Community Setting: Prevalence, Risk Factors, and Composition of Gut Microbiome. *Frontiers in microbiology*, 11, 1402. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01402>
- Jacoby, G. A. (2009). AmpC beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22, 161–182. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08>
- Jacoby, G. (2012). Classificação de β -lactamase e sequências de aminoácidos para TEM, SHV e OXA de espectro estendido e enzimas resistentes a inibidores. <http://www.lahey.org/Estudos/>
- Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G., e Philippon, A. (1988) Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of Infectious Diseases*, 10(4), 867–878.
- Jernigan, J. A., Hatfield, K. M., Wolford, H., Nelson, R. E., Olubajo, B., Reddy, S. C., McCarthy, N., Paul, P., McDonald, L. C., Kallen, A., Fiore, A., Craig, M., & Baggs, J. (2020). Multidrug-Resistant Bacterial Infections in U.S. Hospitalized Patients, 2012-2017. *The New England journal of medicine*, 382(14), 1309–1319. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1914433>
- Jian, Z., Zeng, L., Xu, T., Sun, S., Yan, S., Yang, L., Huang, Y., Jia, J., & Dou, T. (2021). Antibiotic resistance genes in bacteria: Occurrence, spread, and control. *Journal of basic microbiology*, 61(12), 1049–1070. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100201>
- Klein, E. Y., van Boeckel, T. P., Martinez, E. M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S. A., Goossens, H., & Laxminarayan, R. (2018). Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(15), E3463–E3470. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717295115>
- Knothe, H., Shah, P., Kremery, V., Antal, M., & Mitsuhashi, S. (1983). Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, 11(6), 315–317. <https://doi.org/10.1007/BF01641355>
- Lee, J. H., Bae, I. K., & Lee, S. H. (2012). New definitions of extended-spectrum β -lactamase conferring worldwide emerging antibiotic resistance. *Medicinal research reviews*, 32(1), 216–232. <https://doi.org/10.1002/med.20210>
- Literak, I., Dolejska, M., Radimersky, T., Klimes, J., Friedman, M., Aarestrup, F. M., Hasman, H., e Cizek, A. (2010) Antimicrobial-resistant faecal *Escherichia coli* in wild mammals in central Europe: multiresistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in wild boars. *Journal of Applied Microbiology*, 108(5), 1702–1711

- Liu, C. M., Stegger, M., Aziz, M., Johnson, T. J., Waits, K., Nordstrom, L., Gauld, L., Weaver, B., Rolland, D., Statham, S., Horwinski, J., Sariya, S., Davis, G. S., Sokurenko, E., Keim, P., Johnson, J. R., & Price, L. B. (2018). *Escherichia coli* ST131-H22 as a Foodborne Uropathogen. *mBio*, 9(4), e00470-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.00470-18>
- Liu, X., Li, X., Yang, A. W., Tang, B., Jian, Z. J., Zhong, Y. M., Li, H. L., Li, Y. M., Yan, Q., Liang, X. H., & Liu, W. E. (2022). Community Fecal Carriage and Molecular Epidemiology of Extended-Spectrum β -Lactamase- and Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* from Healthy Children in the Central South China. *Infection and drug resistance*, 15, 1601–1611. <https://doi.org/10.2147/IDR.S357090>
- Livermore (2003) Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 36, Issue Supplement_1, Pages S11–S23
- Livermore D. M. (1995). beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical microbiology reviews*, 8(4), 557–584. <https://doi.org/10.1128/CMR.8.4.557>
- Livsansharav, U. O., Hirai, I., Niki, M., Nakata, A., Yoshinaga, A., Moriyama, T., & Yamamoto, Y. (2011). Prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae among healthy adult people in Japan. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy*, 17(5), 722–725. <https://doi.org/10.1007/s10156-011-0225-2>
- MacDougall, C., & Chambers, H. F. (2011). *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*.
- Madec J. Y., Haenni M., Ponsin C., Kieffer N., Rion E., Gassilloud B. (2016) Sequence Type 48 *Escherichia coli* Carrying the blaCTX-M-1 Inc11/ST3 Plasmid in Drinking Water in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 23;60(10):6430-2.
- Madico, G., Akopyants, N. S., & Berg, D. E. (1995). Arbitrarily primed PCR DNA fingerprinting of *Escherichia coli* O157:H7 strains by using templates from boiled cultures. *Journal of clinical microbiology*, 33(6), 1534–1536. <https://doi.org/10.1128/jcm.33.6.1534-1536.1995>
- Mannathoko, N., Mosepele, M., Gross, R., Smith, R. M., Alby, K., Glaser, L., Richard-Greenblatt, M., Dumm, R., Sharma, A., Jaskowiak-Barr, A., Cressman, L., Sewawa, K., Cowden, L., Reesey, E., Otukile, D., Paganotti, G. M., Mokomane, M., & Lautenbach, E. (2022). Colonization with extended-spectrum cephalosporin-resistant Enterobacterales (ESCrE) and carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE) in healthcare and community settings in Botswana: an antibiotic resistance in communities and hospitals (ARCH) study. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 122, 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.06.004>
- Massarine, N. C. M., de Souza, G. H. A., Nunes, I. B., Salomé, T. M., Barbosa, M. D. S., Faccin, I., Rossato, L., & Simionatto, S. (2023). How Did COVID-19 Impact the Antimicrobial Consumption and Bacterial Resistance Profiles in Brazil?. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(9), 1374. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12091374>
- McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology spectrum*, 6(2), 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>
- Melchior, N. H., & Keiding, J. (1991). In-vitro evaluation of ampicillin/broctam and comparison with other beta-lactam antibiotics. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 27(1), 29–40. <https://doi.org/10.1093/jac/27.1.29>

- Mesquita, G. P., Costa, M. C. C., Silva, M. A., Araújo, L. G., Vila Nova, B. G., Castro, É. J. M., Castelo Branco, L. C. M., Silva, R. C. S. D., Marques, S. G., & Abreu, A. G. (2023). Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with pneumonia during the COVID-19 pandemic and pre-pandemic periods in Northeast Brazil. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, 56, e12726. <https://doi.org/10.1590/1414-431X2023e12726>
- Meyer, E., Gastmeier, P., Kola, A., & Schwab, F. (2012). Pet animals and foreign travel are risk factors for colonisation with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Infection*, 40(6), 685–687. <https://doi.org/10.1007/s15010-012-0324-8>
- Miller E. L. (2002). The penicillins: a review and update. *Journal of midwifery & women's health*, 47(6), 426–434. [https://doi.org/10.1016/s1526-9523\(02\)00330-6](https://doi.org/10.1016/s1526-9523(02)00330-6)
- Miranda-Romero, AL, Silva-Sanchez, J., Garza-Ramos, U., Barrios, H., Sánchez-Pérez, A., & Reyna-Flores, F. (2017). Caracterização molecular de isolados de *Escherichia coli* produtores de ESBL de infecções hospitalares e adquiridas na comunidade no noroeste do México. *Microbiologia diagnóstica e doenças infecciosas*, 87 (1), 49–52. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.10.006>
- Mohanty, S., Singhal, R., Sood, S., Dhawan, B., Das, B. K., & Kapil, A. (2005). Comparative in vitro activity of beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations against gram negative bacteria. *The Indian journal of medical research*, 122(5), 425–428.
- Molnar A. (2019). Antimicrobial Resistance Awareness and Games. *Trends in microbiology*, 27(1), 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.09.007>
- Montezzi, L., Campana, E., Corrêa, L., Justo, L., Paiva Paschoal, R., Lemos, I., Dias, V., Silva, D., Do, M., Maciel Souza, C., Drolshagen, M., e Picao, R. (2015) Occurrence of carbapenemase-producing bacteria in coastal recreational waters. *International journal of antimicrobial agents*, 45, 174–177.
- Murray, B. E., & Mederski-Samaroj, B. (1983). Transferable beta-lactamase. A new mechanism for in vitro penicillin resistance in *Streptococcus faecalis*. *The Journal of clinical investigation*, 72(3), 1168–1171. <https://doi.org/10.1172/JCI111042>
- Nnadozie, C.F., e Odume, O.N. (2019). Freshwater environments as reservoirs of antibiotic resistant bacteria and their role in the dissemination of antibiotic resistance genes. *Environ. Pollut.* 254, 113067.
- Ng, L. S., Tan, T. Y., & Yeow, S. C. (2010). A cost-effective method for the presumptive identification of Enterobacteriaceae for diagnostic microbiology laboratories. *Pathology*, 42(3), 280–283. <https://doi.org/10.3109/00313021003631338>
- OMS. (2017a). Organização Mundial da Saúde. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Recuperado de <https://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/>
- O'Neill J. (2015). Antimicrobials in agriculture and the environment: reducing unnecessary use and waste. The review on antimicrobial resistance. <https://amr-review.org/>.
- O'Neill J. (2016). Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. A review on antimicrobial resistance.. pp. 4–5.

- O'Neill, J. (2016). Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. *The Review on Antimicrobial Resistance*, 1-84.
- O'Neill, L. & J. Collier, P., (2018). Two years on: an update on achievement towards the recommendations of the antimicrobial resistance report. *Journal of applied microbiology*, 125(2), 308–312. <https://doi.org/10.1111/jam.13933>
- Obeng-Nkrumah, N., Hansen, D. S., Awuah-Mensah, G., Blankson, N. K., Frimodt-Møller, N., Newman, M. J., Opintan, J. A., & Krogfelt, K. A. (2023). High level of colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacterales in African community settings, Ghana. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 106(1), 115918. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.115918>
- Oliveira, J., e Reygaert, W.C. (2021). Gram Negative Bacteria. In: StatPearls. Treasure Island. StatPearls.
- Oliveira, S., Moura, R. A., Silva, K. C., Pavez, M., McCulloch, J. A., Dropa, M., Matté, M. H., Mamizuka, E. M., Sato, M. I. Z., Pestana de Castro, A. F., e Lincopan, N. (2014) Isolation of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains belonging to the high-risk multiresistant clonal complex 11 (ST437 and ST340) in urban rivers. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(3), 849–852.
- Onduru, O. G., Aboud, S., Nyirenda, T. S., Rumisha, S. F., & Mkakosya, R. S. (2021). Antimicrobial susceptibility testing profiles of ESBL-producing Enterobacterales isolated from hospital and community adult patients in Blantyre, Malawi. *IJID regions*, 1, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2021.08.002>
- Osthalm-Balkhed, A., Tärnberg, M., Nilsson, M., Nilsson, L. E., Hanberger, H., Hällgren, A., & Travel Study Group of Southeast Sweden (2013). Travel-associated faecal colonization with ESBL-producing Enterobacteriaceae: incidence and risk factors. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 68(9), 2144–2153. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt167>
- Ortiz de la Rosa, J. M., Nordmann, P., & Poirel, L. (2019). ESBLs and resistance to ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam combinations in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 74(7), 1934–1939. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz149>
- Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(11), 4943–4960. <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>
- Patricio, T. C. D. C., Farias, B. O., Santiago, G. S., Souza, V. R. S., Pimenta, R. L., de Oliveira, C. C., Coelho, I. S., de Souza, M. M. S., & Coelho, S. M. O. (2022). Production of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* isolated from poultry in Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian journal of veterinary medicine*, 44, e001722. <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm001722>
- Paschoal, R. P., Campana, E. H., Corrêa, L. L., Montezzi, L. F., Barreto, L. R. L., da Silva, I. R., Bonelli, R. R., Castro, L. de S., e Picão, R. C. (2017) Concentration and Variety of Carbapenemase Producers in Recreational Coastal Waters Showing Distinct Levels of Pollution. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(12).
- Paterson, D. L., e Bonomo, R. A. (2005) Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657–686.
- Pfeifer, Y., Cullik, A., & Witte, W. (2010). Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *International journal of medical microbiology : IJMM*, 300(6), 371–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.04.005>

- Perilli, M., Dell'Amico, E., Segatore, B., de Massis, M. R., Bianchi, C., Luzzaro, F., Rossolini, G. M., Toniolo, A., Nicoletti, G., & Amicosante, G. (2002). Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from an Italian nationwide survey. *Journal of clinical microbiology*, 40(2), 611–614. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.2.611-614.2002>
- Picão, R. C., Poirel, L., Gales, A. C., & Nordmann, P. (2009). Further identification of CTX-M-2 extended-spectrum beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(5), 2225–2226. <https://doi.org/10.1128/AAC.01602-08>.
- Picão, R. C., Santos, A. F., Nicoletti, A. G., Furtado, G. H., & Gales, A. C. (2010). Detection of GES-5-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brazil. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(4), 796–797. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq024>
- Picard, B., Garcia, J. S., Gouriou, S., Duriez, P., Brahimi, N., Bingen, E., Elion, J., & Denamur, E. (1999). The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. *Infection and immunity*, 67(2), 546–553. <https://doi.org/10.1128/IAI.67.2.546-553.1999>
- Poirel, L., Weldhagen, G. F., Naas, T., De Champs, C., Dove, M. G., & Nordmann, P. (2001). GES-2, a class A beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(9), 2598–2603. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.9.2598-2603.2001>
- Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. Schwarz, Cavaco, & Shen (Eds), *Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals* (Vol. 6, p. 289–316). American Society of Microbiology
- Poirel, L., Ortiz de la Rosa, J. M., Richard, A., Aires-de-Sousa, M., & Nordmann, P. (2019). CTX-M-33, a CTX-M-15 derivative conferring reduced susceptibility to carbapenems. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(12), e01515-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.01515-19>
- Quinteros, M., Radice, M., Gardella, N., Rodriguez, M. M., Costa, N., Korbenfeld, D., Couto, E., Gutkind, G., & Microbiology Study Group (2003). Extended-spectrum beta-lactamases in enterobacteriaceae in Buenos Aires, Argentina, public hospitals. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(9), 2864–2867. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.9.2864-2867.2003>
- Radice, M., Power, P., Di Conza, J., & Gutkind, G. (2002). Early dissemination of CTX-M-derived enzymes in South America. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(2), 602–604. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.2.602-604.2002>
- Rafailidis, P. I., Kouranos, V. D., Christodoulou, C., & Falagas, M. E. (2009). Linezolid for patients with neutropenia: are bacteriostatic agents appropriate?. *Expert review of anti-infective therapy*, 7(4), 415–422. <https://doi.org/10.1586/eri.09.11>
- Raffelsberger, N., Buczek, D. J., Svendsen, K., Småbrekke, L., Pöntinen, A. K., Löhr, I. H., Andreassen, L. L. E., Simonsen, G. S., Norwegian E. coli ESBL Study Group, Sundsfjord, A., Gravingen, K., & Samuelsen, Ø. (2023). Community carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a cross-sectional study of risk factors and comparative genomics of carriage and clinical isolates. *mSphere*, e0002523. Advance online publication. <https://doi.org/10.1128/msphere.00025-23>
- Rawat, D., & Nair, D. (2010). Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of global infectious diseases*, 2(3), 263–274. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.68531>

- Recchia, GD e Hall, RM (1995) Gene Cassettes: A New Class of Mobile Element. *Microbiologia*, 141, 3015-3027. [<http://dx.doi.org/10.1099/13500872-141-12-3015>]
- Rice L. B. (2012). Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to β -lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. *Mayo Clinic proceedings*, 87(2), 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2011.12.003>
- Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M. C., Michael, I., & Fatta-Kassinos, D. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review. *The Science of the total environment*, 447, 345–360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.032>
- Rocha, F. R., Pinto, V. P., & Barbosa, F. C. (2016). The Spread of CTX-M-Type Extended-Spectrum β -Lactamases in Brazil: A Systematic Review. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 22(4), 301–311.
- Rowe-Magnus, D. A., Guerout, A. M., & Mazel, D. (2002). Bacterial resistance evolution by recruitment of super-integron gene cassettes. *Molecular microbiology*, 43(6), 1657–1669. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02861.x>
- Ruuskanen, M., Muurinen, J., Meierjohan, A., Pärnänen, K., Tamminen, M., Lyra, C., Kronberg, L., & Virta, M. (2016). Fertilizing with Animal Manure Disseminates Antibiotic Resistance Genes to the Farm Environment. *Journal of environmental quality*, 45(2), 488–493. <https://doi.org/10.2134/jeq2015.05.0250>
- Sánchez, M. B. (2015) Antibiotic resistance in the opportunistic pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Frontiers in Microbiology*, 6.
- Sanders, W. E., Jr, & Sanders, C. C. (1988). Inducible beta-lactamases: clinical and epidemiologic implications for use of newer cephalosporins. *Reviews of infectious diseases*, 10(4), 830–838. <https://doi.org/10.1093/clinids/10.4.830>
- Sasaki, T., Hirai, I., Niki, M., Nakamura, T., Komalamisra, C., Maipanich, W., Kusolsuk, T., Sa-Nguankiat, S., Pubampen, S., & Yamamoto, Y. (2010). High prevalence of CTX-M beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in stool specimens obtained from healthy individuals in Thailand. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(4), 666–668. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq008>
- Serna, C., & Gonzalez-Zorn, B. (2022). Antimicrobial resistance and One Health. *Revista espanola de quimioterapia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*, 35 Suppl 3(Suppl 3), 37–40. <https://doi.org/10.37201/req/s03.09.2022>
- Shahid, M., Sobia, F., Singh, A., Malik, A., Khan, H. M., Jonas, D., & Hawkey, P. M. (2009). Beta-lactams and beta-lactamase-inhibitors in current- or potential-clinical practice: a comprehensive update. *Critical reviews in microbiology*, 35(2), 81–108. <https://doi.org/10.1080/10408410902733979>
- Shbaklo, N., Corcione, S., Vicentini, C., Giordano, S., Fiorentino, D., Bianco, G., Cattel, F., Cavallo, R., Zotti, C. M., & De Rosa, F. G. (2022). An Observational Study of MDR Hospital-Acquired Infections and Antibiotic Use during COVID-19 Pandemic: A Call for Antimicrobial Stewardship Programs. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(5), 695. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050695>
- Silva, N., Igrejas, G., Rodrigues, P., Rodrigues, T., Gonçalves, A., Felgar, A. C., Pacheco, R., Gonçalves, D., Cunha, R., e Poeta, P. (2011) Molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci and extended-spectrum β -lactamase-containing *Escherichia coli* isolates in wild birds from the Azores Archipelago. *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A.*, 40(5), 473–479.

- Silva, K. C. da, e Lincopan, N. (2012) Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 48(2), 91–99.
- Singer, A. C., Shaw, H., Rhodes, V., & Hart, A. (2016). Review of Antimicrobial Resistance in the Environment and Its Relevance to Environmental Regulators. *Frontiers in microbiology*, 7, 1728. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01728>
- So, A. D., Shah, T. A., Roach, S., Ling Chee, Y., & Nachman, K. E. (2015). An Integrated Systems Approach is Needed to Ensure the Sustainability of Antibiotic Effectiveness for Both Humans and Animals. *The Journal of law, medicine & ethics : a journal of the American Society of Law, Medicine & Ethics*, 43 Suppl 3, 38–45. <https://doi.org/10.1111/jlme.12273>.
- Souza, G. A. A. D., Prince, K. A. de, Xavier, L. A., Oliveira, D. C., Alves, D. M., Paula, F. M. T. de, Cardoso, J. B. L., Costa, M. R., Garcia, L. M., & Santo, L. R. E. (2021). ESBL producing enterobacteria isolated from outpatients urocultures. *Research, Society and Development*, 10(6), e37410615701. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15701>
- Stevens, D. L., Bisno, A. L., Chambers, H. F., Dellinger, E. P., Goldstein, E. J., Gorbach, S. L., Hirschmann, J. V., Kaplan, S. L., Montoya, J. G., Wade, J. C., & Infectious Diseases Society of America (2014). Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 59(2), e10–e52. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu444>
- Suárez, C., e Munté, F. G. (2009) Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(2), 116–129.
- Sykes, J. E., & Papich, M. G. (2013). Antibacterial drugs. Ch. 8. *Canine and Feline Infectious Diseases*, 66-86.
- Sykes, R. B., Bonner, D. P., Bush, K., & Georgopapadakou, N. H. (1982). Azthreonam (SQ 26,776), a synthetic monobactam specifically active against aerobic gram-negative bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 21(1), 85–92. <https://doi.org/10.1128/AAC.21.1.85>
- Tamma, P. D., & Mathers, A. J. (2021). Navigating treatment approaches for presumed ESBL-producing infections. *JAC-antimicrobial resistance*, 3(1), dlaa111. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlaa111>
- Theuretzbacher U. (2013). Global antibacterial resistance: The never-ending story. *Journal of global antimicrobial resistance*, 1(2), 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2013.03.010>
- Tola, M. A., Abera, N. A., Gebeyehu, Y. M., Dinku, S. F., & Tullu, K. D. (2021). High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* fecal carriage among children under five years in Addis Ababa, Ethiopia. *PloS one*, 16(10), e0258117. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258117>
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of molecular biology*, 431(18), 3472–3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Tufic-Garutti, S. D. S., Ramalho, J. V. A. R., Longo, L. G. A., de Oliveira, G. C., Rocha, G. T., Vilar, L. C., Dias da Costa, M., Picão, R. C., Girão, V. B. C., Santoro-Lopes, G., Moreira, B. M., & Rodrigues, K. M. P. (2021). Acquisition of antimicrobial resistance determinants in Enterobacterales by international travelers from a large urban setting in Brazil. *Travel medicine and infectious disease*, 41, 102028. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2021.102028>

- Ulstad, C. R., Solheim, M., Berg, S., Lindbæk, M., Dahle, U. R., & Wester, A. L. (2016). Carriage of ESBL/AmpC-producing or ciprofloxacin non-susceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in healthy people in Norway. *Antimicrobial resistance and infection control*, 5, 57. <https://doi.org/10.1186/s13756-016-0156-x>
- Vading, M., Kabir, M. H., Kalin, M., Iversen, A., Wiklund, S., Naucler, P., & Giske, C. G. (2016). Frequent acquisition of low-virulence strains of ESBL-producing *Escherichia coli* in travellers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71, 3548–3555.
- Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(18), 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
- Villar, H. E., Baserni, M. N., & Jugo, M. B. (2013). Faecal carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae and carbapenem-resistant Gram-negative bacilli in community settings. *Journal of infection in developing countries*, 7(8), 630–634. <https://doi.org/10.3855/jidc.2900>
- Vimont, S., Poirel, L., Naas, T., & Nordmann, P. (2002). Identification of a chromosome-borne expanded-spectrum class A beta-lactamase from *Erwinia persicina*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(11), 3401–3405. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.11.3401-3405.2002>
- Viridiana Gallegos-Miranda, Ulises Garza-Ramos, Enrique Bolado-Martínez, Moisés Navarro-Navarro, Katya Rocío Félix-Murray, María del Carmen Candia-Plata, Guillermina Sanchez-Martinez, Josefina Dúran-Bedolla & Jesús Silva-Sánchez (2021) ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from health-care institutions in Mexico, *Journal of Chemotherapy*, 33:2, 122-127, DOI: 10.1080/1120009X.2020.1861815
- Vrancianu, C. O., Gheorghe, I., Dobre, E. G., Barbu, I. C., Cristian, R. E., Popa, M., Lee, S. H., Limban, C., Vlad, I. M., & Chifiriuc, M. C. (2020). Emerging Strategies to Combat β -Lactamase Producing ESKAPE Pathogens. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8527. <https://doi.org/10.3390/ijms21228527>
- Wales, A. D., & Davies, R. H. (2015). Co-Selection of Resistance to Antibiotics, Biocides and Heavy Metals, and Its Relevance to Foodborne Pathogens. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 4(4), 567–604. <https://doi.org/10.3390/antibiotics4040567>
- Walsh, T. R., Weeks, J., Livermore, D. M., & Toleman, M. A. (2011). Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *The Lancet. Infectious diseases*, 11(5), 355–362. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70059-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70059-7)
- Walther-Rasmussen, J., & Høiby, N. (2004). Cefotaximases (CTX-M-ases), an expanding family of extended-spectrum beta-lactamases. *Canadian journal of microbiology*, 50(3), 137–165. <https://doi.org/10.1139/w03-111>
- Weiner-Lastinger, L. M., Abner, S., Edwards, J. R., Kallen, A. J., Karlsson, M., Magill, S. S., Pollock, D., See, I., Soe, M. M., Walters, M. S., & Dudeck, M. A. (2020). Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015-2017. *Infection control and hospital epidemiology*, 41(1), 1–18. <https://doi.org/10.1017/ice.2019.296>
- Wernli, D., Harbarth, S., Levrat, N., & Pittet, D. (2022). A 'whole of United Nations approach' to tackle antimicrobial resistance? A mapping of the mandate and activities of international organisations. *BMJ global health*, 7(5), e008181. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2021-008181>

- White, A. R., Kaye, C., Poupard, J., Pypstra, R., Woodnutt, G., & Wynne, B. (2004). Augmentin (amoxicillin/clavulanate) in the treatment of community-acquired respiratory tract infection: a review of the continuing development of an innovative antimicrobial agent. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 53 Suppl 1, i3–i20. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh050>
- WHO (2015) World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva, 256p.
- WHO (2017) World Health Organization. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva, 7p.
- Yan, J. J., Wu, S. M., Tsai, S. H., Wu, J. J., & Su, I. J. (2000). Prevalence of SHV-12 among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases and identification of a novel AmpC enzyme (CMY-8) in Southern Taiwan. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(6), 1438–1442. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.6.1438-1442.2000>
- Zagui, G. S., de Andrade, L. N., Moreira, N. C., Silva, T. V., Machado, G. P., da Costa Darini, A. L., & Segura-Muñoz, S. I. (2020). Gram-negative bacteria carrying β -lactamase encoding genes in hospital and urban wastewater in Brazil. *Environmental monitoring and assessment*, 192(6), 376. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08319-w>
- Zaniolo, M. M., Santos, I. C. D., Barbosa, L. N., Pachaly, E. M. V., Caetano, I. C. D. S., Lopes, K. F. C., Marques, M. A., Mota, E. A., Martins, L. A., Piau Junior, R., Germano, R. M., Pachaly, J. R., & Gonçalves, D. D. (2020). Antimicrobial Resistance and Extended-Spectrum Beta-Lactamase Production in Enterobacteria Isolated from Free-Living Primates. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 20(7), 513–516. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2552>
- Zavala-Cerna, M. G., Segura-Cobos, M., Gonzalez, R., Zavala-Trujillo, I. G., Navarro-Perez, S. F., Rueda-Cruz, J. A., & Satoscoy-Tovar, F. A. (2020). The Clinical Significance of High Antimicrobial Resistance in Community-Acquired Urinary Tract Infections. *The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale*, 2020, 2967260. <https://doi.org/10.1155/2020/2967260>
- Zhanel, G. G., Lawson, C. D., Adam, H., Schweizer, F., Zelenitsky, S., Lagacé-Wiens, P. R., Denisuk, A., Rubinstein, E., Gin, A. S., Hoban, D. J., Lynch, J. P., 3rd, & Karlowsky, J. A. (2013). Ceftazidime-avibactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination. *Drugs*, 73(2), 159–177. <https://doi.org/10.1007/s40265-013-0013-7>
- Zhuang, M., Achmon, Y., Cao, Y., Liang, X., Chen, L., Wang, H., Siame, B. A., & Leung, K. Y. (2021). Distribution of antibiotic resistance genes in the environment. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 285, 117402. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117402>

9. ANEXOS

ANEXO I: Parecer Consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de uma mudança de paradigma quanto à origem da aquisição de bacilos gram-negativos resistentes aos antimicrobianos: do hospital para a comunidade

Pesquisador: Marcia Garnica

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 46762621.2.0000.5455

Instituição Proponente: IMPAR SERVICOS HOSPITALARES S/A

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.812.469

Apresentação do Projeto:

As infecções causadas por BGN MDR (bacilos gram-negativos multidrug resistant) constitui um problema mundial de saúde pública, em que as opções terapêuticas são limitadas ou mesmo inexistentes. A ocorrência delas é maior nos países em desenvolvimento, ocasionando elevada morbidade, mortalidade, impacto econômico e social. Apesar destas bactérias causarem mais infecções em ambientes hospitalares, no Brasil, a contaminação de alimentos e águas recreativas com BGN-RAs já foi descrita, assim como em outros países. Todavia, o papel destes reservatórios de microrganismos multirresistentes na ocorrência das infecções nos pacientes submetidos aos cuidados em saúde não é conhecido. A extensa disseminação de bactérias resistentes a antimicrobianos em diversos ambientes naturais nos sugere uma possível relação entre a exposição e colonização. Entretanto, são poucos os estudos que avaliaram a colonização de indivíduos da comunidade por estes microrganismos, sobretudo no Brasil. Ademais, dentre os estudos que fizeram esta pesquisa, poucos exploraram o papel dos hábitos alimentares, recreativos, socioeconômicos e de estilo de vida nesta ocorrência. A hipótese deste estudo é a de que o ambiente contaminado

Endereço: Rua Peixoto Gomide, 285 - 1º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 01.409-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3147-9645 **E-mail:** cep9j@h9j.com.br



Continuação do Parecer: 4.812.469

com estes microrganismos promove a colonização de seres humano que, por sua vez, podem servir como reservatório e veículo destes microrganismos para as instituições de saúde. Portanto, o objetivo do trabalho é determinar a prevalência e a origem da colonização comunitária do TGI por BGN MDR, bem como possíveis fatores de risco associados a esta ocorrência, em pacientes atendidos em uma unidade de pronto atendimento. Para tal, serão coletados espécimes clínicos (fezes ou swabs retais) de 2400 indivíduos, sem histórico de internação recente em instituições de saúde, para a investigação de colonização por BGNs produtores de cefalosporinases do tipo AmpC, ESBL, carbapenemases e com resistência transferível à colistina. Um questionário acerca de hábitos e estilo de vida, bem como dados socioeconômicos será aplicado. Serão recrutados os pacientes atendidos na unidade de pronto atendimento do Complexo Hospitalar de Niterói ao longo de 12 meses, sem restrição de idade, que não possuam hospitalização recente (6 meses antes da coleta do espécime) ou qualquer outra espécie de cuidado médico prolongado, e que atestem participação voluntária no estudo por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os participantes serão convidados a responder um questionário e a fornecer um swab retal. As amostras serão processadas para a identificação e caracterização de susceptibilidade antimicrobiana sob pressão seletiva, incluindo a caracterização quanto ao perfil fenotípico e genotípico de resistência. Os resultados da caracterização fenotípica e genotípica e do questionário serão confrontados com os dados obtidos de estudos complementares para a avaliação de potenciais fontes ambientais para a colonização.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

– Determinar a prevalência e a origem da colonização comunitária do TGI por BGN MDR

Objetivo Secundário:

Objetivos específicos:– Descrever a prevalência de colonização comunitária do TGI por BGN MDR.– Analisar as variáveis epidemiológicas e clínicas potencialmente associadas à aquisição da colonização comunitária do TGI por BGN MDR;– Identificar os determinantes genéticos envolvidos nos

Endereço: Rua Peixoto Gomide, 285 - 1º andar	CEP: 01.409-001
Bairro: Cerqueira Cesar	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3147-9645	E-mail: ceph9j@h9j.com.br



Continuação do Parecer: 4.812.469

fenótipos de resistência observados;– Identificar as linhagens de BGN MDR mais frequentes na colonização comunitária do TGI;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não estão previstos riscos para os indivíduos incluídos neste projeto. Trata-se de um estudo observacional com coleta de dados mediante entrevista, que não trará qualquer risco aos indivíduos nele incluídos. Não haverá nenhuma interferência da equipe participante do projeto na assistência dos pacientes. O único exame adicional àqueles já indicados pela equipe assistencial será coleta de swab retal para cultura; exame não invasivo que não causa risco ou incômodo adicional aos pacientes. As análises microbiológicas adicionais das amostras bacterianas oriundas dos swabs serão realizadas em colaboração com laboratório de pesquisa de referência para estudo de microrganismos multirresistentes (LIMM, IMPG, UFRJ) sob a responsabilidade da Profª Drª Renata C. Picão. Não serão armazenados espécimes clínicos dos pacientes incluídos no projeto. A coleta e manuseio dos dados serão realizados somente pelos pesquisadores incluídos no projeto. Será garantido sigilo que assegure a privacidade dos sujeitos e a confidencialidade dos dados dos indivíduos incluídos no estudo. Os resultados serão divulgados de forma compilada em meios tradicionais de divulgação científica como congressos e revistas científicas. Os dados obtidos não serão usados para outros fins não previstos neste protocolo.

Benefícios:

Esperamos, ao longo do desenvolvimento deste projeto, gerar informações sobre a colonização de indivíduos da comunidade por BGN MDR, principais causadores de infecções oportunistas. Esse conhecimento poderá orientar rotinas de prevenção e terapêuticas para este agravo nessa população. Conseqüentemente, contribuir para a melhoria da assistência prestada. Contudo, as informações geradas poderão não beneficiar diretamente o paciente incluído na pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo prospectivo para avaliar colonização por bacilos gram negativos multirresistentes a antimicrobianos em pacientes atendidos em unidade de pronto atendimento.

Endereço: Rua Peixoto Gomide, 285 - 1º andar	CEP: 01.409-001
Bairro: Cerqueira Cesar	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3147-9645	E-mail: ceph9j@h9j.com.br



Continuação do Parecer: 4.812.469

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE e termos de confidencialidade adequados

Recomendações:

Incluir no projeto de pesquisa o questionário que será aplicado aos pacientes e cuja informação consta do TCLE

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

A atualização dos Protocolos de Pesquisa é procedimento obrigatório conforme as Resoluções 466/2012 e 510/16 (a cada seis meses), bem como enviar relatório final, quando do término do estudo (através de "Notificação" via Plataforma Brasil).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1697239.pdf	12/05/2021 07:33:42		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termodeconsentimentonovoendereco.docx	12/05/2021 07:33:30	Marcia Garnica	Aceito
Folha de Rosto	folharostoassinada.pdf	07/05/2021 15:23:33	Marcia Garnica	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaoinstituicaoCHN1.pdf	07/05/2021 15:23:10	Marcia Garnica	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoCompletoCEP_semseguimento.docx	04/05/2021 08:54:55	Marcia Garnica	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaodeinstituicaoCCS.pdf	04/05/2021 08:47:29	Marcia Garnica	Aceito
Orçamento	orcamento_reduzido.docx	04/05/2021 08:47:12	Marcia Garnica	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	cartaapresentacaoprojeto1.pdf	02/05/2021 17:46:55	Marcia Garnica	Aceito
Outros	curriculumpesquisadores.docx	02/05/2021 17:37:20	Marcia Garnica	Aceito

Endereço: Rua Peixoto Gomide, 285 - 1º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 01.409-001

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3147-9645

E-mail: cep9j@h9j.com.br



Continuação do Parecer: 4.812.469

Outros	termodeconfidencialidade.docx	02/05/2021 17:32:07	Marcia Garnica	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	02/05/2021 17:30:15	Marcia Garnica	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 28 de Junho de 2021

Assinado por:
Antonio Carlos Campos Pignatari
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Peixoto Gomide, 285 - 1º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 01.409-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3147-9645 **E-mail:** cep9j@h9j.com.br

ANEXO II: Amostras de *E. coli* selecionadas para o TSA

Indivíduo	Amostra	Pressão	PCR ESBL			PCR ESBL CTX-M			Tipificação
			SHV	TEM	GES	G1/2	G8	G9	Grupo Filogenético
T2	CHN 1	FEP 16	-	+	-	+	+	-	A/C
T2	CHN 2	FEP 16	-	+	-	-	+	-	A/C
T3	CHN 22	FEP 16	-	-	-	+	-	-	A
T3	CHN 23	FEP 16	-	-	-	+	-	-	A
T9	CHN 51	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
T9	CHN 53	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
T9	CHN 54	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
T9	CHN 55	FEP 16	-	+	-	+	-	+	E/Clado I
T9	CHN 56	FEP 16	-	+	-	+	+	-	A/C
T9	CHN 57	FEP 16	-	+	-	+	-	+	A/C
T9	CHN 58	FEP 16	-	+	-	+	+	-	A/C
T9	CHN 59	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
T9	CHN 60	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
T11	CHN 61	FEP 16	-	+	-	+	-	-	B1
T11	CHN 62	FEP 16	-	+	-	+	+	-	A/C
T11	CHN 64	FEP 16	-	+	-	+	+	-	B1
T11	CHN 225	FEP 16	-	+	-	+	+	-	B1
T11	CHN 226	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
T14	CHN 106	FEP 16	-	-	-	+	+	+	F
T14	CHN 107	FEP 16	-	-	-	+	+	+	F
T14	CHN 108	FEP 16	-	-	-	+	-	+	F
T14	CHN 109	FEP 16	-	-	-	+	+	+	F
T18	CPN 141	FEP 16	-	-	-	+	+	-	A/C
T18	CPN 142	FEP 16	-	+	-	+	+	-	A/C
T18	CPN 143	FEP 16	+	-	-	+	-	-	A

Indivíduo	Amostra	Pressão	PCR ESBL			PCR ESBL CTX-M			Tipificação
			SHV	TEM	GES	G1/2	G8	G9	Grupo Filogenético
T21	CHN 167	FEP 16	-	-	-	+	+	-	D/E
T21	CHN 168	FEP 16	+	-	-	+	+	-	D/E
T21	CHN 171	FEP 16	-	-	-	+	+	-	F
T21	CPN 184	FEP 16	+	-	-	+	+	-	D/E
T29	CHN 204	FEP 16	-	-	-	+	+	-	U
T29	CHN 205	FEP 16	-	-	-	+	+	-	B1
T29	CHN 206	FEP 16	-	-	-	+	+	-	B1
T29	CHN 207	FEP 16	-	-	-	+	+	-	B1
CP011	ACP 3	FEP 16	-	-	-	+	-	+	D/E
CP011	ACP 4	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP011	ACP 16	FEP 16	-	-	-	+	-	+	D/E
CP011	ACP 17	FEP 16	-	-	-	+	-	+	D/E
CP011	ACP 18	FEP 16	-	-	-	+	-	+	D/E
CP019	ACP 30	FEP 16	-	+	-	+	-	+	E/Clado I
CP019	ACP 31	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
CP019	ACP 42	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
CP019	ACP 45	FEP 16	-	+	-	-	-	+	D/E
CP019	ACP 47	FEP 16	-	+	-	+	-	+	D/E
CP019	ACP 68	FEP 16	-	+	-	-	-	+	D/E
CP019	ACP 69	FEP 16	-	+	-	-	-	+	D/E
CP019	ACP 70	FEP 16	-	+	-	-	-	+	D/E
CP026	ACP 36	FEP 16	-	-	-	+	+	-	A/C
CP026	ACP 37	FEP 16	-	-	-	+	+	-	A/C
CP026	ACP 38	FEP 16	-	-	-	+	+	-	A/C
CP026	ACP 39	FEP 16	-	-	-	+	+	-	A/C
CP027	ACP 40	FEP 16	-	+	-	+	-	-	B1

Indivíduo	Amostra	Pressão	PCR ESBL			PCR ESBL CTX-M			Tipificação
			SHV	TEM	GES	G1/2	G8	G9	Grupo Filogenético
CP027	ACP 41	FEP 16	-	+	-	+	-	+	A/C
CP027	ACP 43	FEP 16	-	+	-	+	-	-	B1
CP027	ACP 44	FEP 16	-	-	-	+	-	+	A/C
CP027	ACP 48	FEP 16	-	+	-	+	-	-	B1
CP029	ACP 55	FEP 16	-	-	-	+	-	+	A
CP029	ACP 56	FEP 16	-	-	-	+	-	-	A
CP029	ACP 71	FEP 16	-	-	-	+	-	-	A
CP029	ACP 72	FEP 16	-	-	-	+	-	-	A
CP049	ACP 99	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP049	ACP 100	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP040	ACP 105	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B1
CP040	ACP 143	FEP 16	-	+	-	+	-	-	U
CP040	ACP 144	FEP 16	-	-	-	+	+	-	D/E
CP047	ACP 106	FEP 16	-	-	-	+	+	-	B2
CP047	ACP 107	FEP 16	-	-	-	+	+	-	B2
CP043	ACP 108	FEP 16	-	-	-	+	+	-	A
CP043	ACP 109	FEP 16	-	-	-	-	+	-	A
CP036	ACP 127	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP036	ACP 128	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP036	ACP 137	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP036	ACP 138	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP036	ACP 139	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP036	ACP 140	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP042	ACP 145	FEP 16	-	+	-	+	+	-	A/C
CP042	ACP 147	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP053	ACP 150	FEP 16	-	+	-	+	+	-	F

Indivíduo	Amostra	Pressão	PCR ESBL			PCR ESBL CTX-M			Tipificação
			SHV	TEM	GES	G1/2	G8	G9	Grupo Filogenético
CP053	ACP 151	FEP 16	-	+	-	+	-	-	F
CP053	ACP 153	FEP 16	-	+	-	+	-	-	F
CP058	ACP 152	FEP 16	-	-	-	+	+	-	B1
CP065	ACP 182	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP065	ACP 184	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP065	ACP 185	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP065	ACP 186	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP065	ACP 187	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP065	ACP 188	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP065	ACP 189	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP088	ACP 194	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B2
CP088	ACP 197	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B2
CP088	ACP 198	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B2
CP088	ACP 199	FEP 16	-	-	-	-	-	-	B2
CH003	ACP 195	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CH003	ACP 196	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP095	ACP 204	FEP 16	-	+	-	+	+	-	A
CP095	ACP 205	FEP 16	-	+	-	+	+	-	A
CP097	ACP 206	FEP 16	-	+	-	+	+	-	A
CP099	ACP 207	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
CP113	ACP 208	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP113	ACP 209	FEP 16	-	+	-	+	+	-	F
CP113	ACP 210	FEP 16	-	-	-	+	-	-	F
CP113	ACP 211	FEP 16	-	+	-	+	-	-	F
CP113	ACP 212	FEP 16	-	+	-	+	-	-	F
CP119	ACP 213	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B1

Indivíduo	Amostra	Pressão	PCR ESBL			PCR ESBL CTX-M			Tipificação
			SHV	TEM	GES	G1/2	G8	G9	Grupo Filogenético
CP119	ACP 214	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B1
CP119	ACP 215	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B1
CP119	ACP 216	FEP 16	-	-	-	+	+	-	B1
CP119	ACP 217	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B1
CP119	ACP 218	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B1
CP152	ACP 282	FEP 16	-	-	-	+	-	-	Clado I/II
CP152	ACP 283	FEP 16	-	-	-	+	-	-	Clado I/II
CP152	ACP 284	FEP 16	-	-	-	+	-	-	Clado I/II
CP152	ACP 285	FEP 16	-	-	-	+	-	-	Clado I/II
CP158	ACP 287	FEP 16	-	-	-	+	-	-	A/C
CP158	ACP 288	FEP 16	-	-	-	+	-	-	B2
CP160	ACP 293	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
CP160	ACP 294	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
CP160	ACP 295	FEP 16	-	+	-	-	-	-	A/C
CP160	ACP 305	FEP 16	-	-	-	+	-	-	A/C
CP160	ACP 307	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A/C
CP161	ACP 302	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A
CP161	ACP 303	FEP 16	-	+	-	+	-	-	A
CP167	ACP 313	FEP 16	-	-	-	+	+	-	A/C
CP167	ACP 314	FEP 16	-	-	-	+	+	-	A/C
CP163	ACP 317	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP163	ACP 318	FEP 16	-	-	-	+	-	-	D/E
CP165	ACP 323	FEP 16	-	+	-	+	+	-	B1
CP165	ACP 324	FEP 16	-	-	-	+	+	-	B1
CP170	ACP 330	FEP 16	-	-	-	+	-	+	B2
CP170	ACP 331	FEP 16	-	-	-	+	-	+	B2

Indivíduo	Amostra	Pressão	PCR ESBL			PCR ESBL CTX-M			Tipificação	
			SHV	TEM	GES	G1/2	G8	G9	Grupo Filogenético	
CP170	ACP 357	FEP 16	-	-	-	+	-	+	B2	
CP170	ACP 358	FEP 16	-	-	-	+	-	+	B2	
CP170	ACP 360	FEP 16	-	-	-	+	-	+	B2	
CP170	ACP 365	FEP 16	-	-	-	+	-	+	B2	
CP174	ACP 347	FEP 16	-	+	-	+	-	+	F	
CP174	ACP 348	FEP 16	-	+	-	+	-	+	F	
CP174	ACP 370	FEP 16	-	+	-	+	-	+	F	
CP174	ACP 371	FEP 16	-	+	-	+	-	+	F	
CP177	ACP 349	FEP 16	-	-	-	+	-	+	D/E	
CP177	ACP 350	FEP 16	-	-	-	+	-	+	D/E	
CP186	ACP 405	FEP 16	-	-	-	+	-	+	B2	
CP186	ACP 422	FEP 16	-	-	-	+	-	+	B2	

Linhas amarelas representam as amostras de *E. coli* selecionadas para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos