

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Jéssica Andrade**

**Ocorrência e perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de  
bastonetes Gram negativos isolados de amostras de proteína animal  
em Juiz de Fora/MG**

Juiz de Fora

2019

**JÉSSICA ANDRADE**

**OCORRÊNCIA E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS  
ANTIMICROBIANOS DE BASTONETES GRAM NEGATIVOS ISOLADOS  
DE AMOSTRAS DE PROTEÍNA ANIMAL EM JUIZ DE FORA-MG**

Dissertação de Mestrado do curso de Pós-graduação de Ciências Biológicas: Área: Imunologia e Doenças Infecto-Parasitárias, para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas: Área: Imunologia e Doenças Infecto-Parasitárias.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Vânia Lúcia da Silva**

**Co-orientador: Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz**

Juiz de Fora

2019

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Andrade, Jéssica.

Ocorrência e perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de bastonetes Gram negativos isolados de amostras de proteína animal em Juiz de Fora/MG / Jéssica Andrade. -- 2019.

89 p.

Orientadora: Vânia Lúcia da Silva

Coorientadora: Cláudio Galuppo Diniz

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Imunologia e Genética, 2019.

1. Resistência Bacteriana. 2. Alimentos. 3. microrganismo resistentes em alimentos. 4. teste de susceptibilidade aos antimicrobianos. 5. resistência aos antimicrobianos. I. Silva, Vânia Lúcia da, orient. II. Diniz, Cláudio Galuppo, coorient. III. Título.

**OCORRÊNCIA E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE  
BASTONETES GRAM NEGATIVOS ISOLADOS DE AMOSTRAS DE PROTEÍNA  
ANIMAL EM JUIZ DE FORA-MG**

Data da aprovação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Vânia Lúcia da Silva  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Dr. Cláudio Galuppo Diniz  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Profa. Dra. Francis Moreira Borges  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Profa. Dra. Vanessa Cordeiro Dias  
Faculdade do Sudeste Mineiro - FACSUM

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais

Aos orientadores

A todos os alunos do laboratório de microbiologia que contribuíram para a realização desse trabalho

## **DESENVOLVIMENTO**

Laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Bacteriana  
Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia  
Instituto de Ciências Biológicas-Universidade Federal de Juiz de Fora

### **Colaboração**

M.Sc. Renata Barros da Silva, Doutoranda  
Laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Bacteriana

### **APOIO FINANCEIRO**

CNPq

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

FAPEMIG

Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de Minas Gerais

CAPES

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

## RESUMO

O problema da resistência aos antimicrobianos é algo que afeta a saúde pública de todo o mundo, e vem sendo ao longo dos anos a causa de vários óbitos devido a presença de bactérias que são capazes sobreviver a concentrações terapêuticas das drogas. Nesse presente trabalho buscou-se analisar se os alimentos teriam papel no processo de disseminação da resistência bacteriana. Constituíram material de análise deste estudo as carnes coletadas de diferentes estabelecimentos no município de Juiz de Fora/MG. Foram coletadas amostras de peito de frango (n=16), patinho de boi (n=16), pernil de porco (n=16) e filé de tilápia (n=16), o material foi processado no Laboratório de Microbiologia da UFJF. As carnes foram processadas e o material foi incubado em diferentes meios de cultivo, eosina azul de metileno, manitol, bile esculina, ágar sangue e caldo Rappaport por 48 horas em estufa bacteriológica. A contagem de unidades formadoras de colônias bacterianas foi realizada e as bactérias foram congeladas para serem analisadas posteriormente. Grande parte das bactérias coletadas foram de coco Gram-positivos, seguidos de bacilos Gram-negativos, os bacilos foram o objeto de estudo desse trabalho, para os quais foram realizados testes bioquímicos para identificação, a maioria foi classificada presuntivamente como membros pertencentes a família *Enterobacteriaceae*. Ao todo 140 bacilos foram selecionados para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, onde foram utilizados 16 antibióticos: amicacina, amoxicilina+ ac. Clavulânico, ampicilina, aztreonam, cefazolina, cefepime, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, gentamicina, meropenem, levofloxacina, sulfazotrim e tetraciclina. A maioria das bactérias estudadas apresentou resistência aos antibióticos beta-lactâmicos penicilinas (ampicilina, amoxicilina/ácido clavulânico) e cefalosporinas de primeira e segunda geração (cefazolina e ceftazidima). A análise do perfil de multirresistência a drogas demonstrou que a carne de frango apresentou o maior índice (0,31) com resistência a cinco antimicrobianos diferentes. A carne de peixe foi a única que apresentou resistência a todas as cefalosporinas testadas no experimento, inclusive a cefepime. Podendo-se considerar que as carnes são vetores de microrganismos resistentes.

**Palavras-chave:** resistência bacteriana; alimentos; carnes; teste de susceptibilidade aos antimicrobianos.

## ABSTRACT

The problem of resistance to antimicrobials, is something that affects public health worldwide, the resistance has been over the years the cause of several deaths due to the presence of bacteria that are able to survive therapeutic concentrations of drugs. This paper seeks to analyze whether food would play a role in the dissemination process of bacterial resistance, and the material analyzed was the meat collected from different establishments in the city of Juiz de Fora-Mg. Samples of chicken (n = 16), beef (n = 16), pork (n = 16) and tilapia (n = 16), the material was processed in the microbiology laboratory of UFJF. The meats were processed and the material was incubated in different culture media, eosin methylene blue agar, bile esculyn agar, manitol agar, and blood agar rappaport broth for 48 hours , the count was performed and the bacteria were frozen to subsequently analyzed. Most of the bacteria collected were Gram-positive , followed by Gram-negative bacilli, the Bacilli were the object of study of this work, where biochemical tests were performed for identification, most were classified presumptively as members belonging to the family *Enterobacteriaceae*. In all 140 bugs were selected for antimicrobial susceptibility test, where 16 antibiotics were used: amikacin, amoxicillin + AC. clavulanic (, ampicillin, Aztreonam , Cefazolin, cefepime , cefoxitin, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin , chloramphenicol, gentamicin, meropenem, levofloxacin, Sulfazotrim and Tetracycline. Of these most studied bacteria showed resistance to beta-lactam penicillins antibiotics (ampicillin, Amoxicillin/clavulamic acid) and first and second generation cephalosporins (Cefazolin and Cefoxitin). Analysis of the multidrug resistance profile showed that chicken meat had the highest index (0.31) with resistance to five different antibiotics. Fish meat was the only one that presented resistance to all the cephalosporins tested in the experiment, including cefepime It can be considered that meats are vectors of resistant microorganisms.

**Key words:** bacterial resistance; food ,meat, Antimicrobial susceptibility test



## Lista de Figuras

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Rotas de Disseminação de resistência .....   | 24 |
| <b>Figura 2:</b> Levantamento epidemiológico de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Brasil, entre os anos de 2000 a 2017. .... | 28 |
| <b>Figura 3:</b> Mapa das regiões da cidade de Juiz de fora em que se realizou a coleta das carnes.....                                 | 31 |
| <b>Figura 4:</b> Procedimento de diluição seriada para preparo das amostras .....   | 32 |
| <b>Figura 5:</b> Diversidade microbiana dos microrganismos encontrados nos diferentes tipos de carne avaliadas. ....                    | 41 |
| <b>Figura 6:</b> Níveis de resistência observados nos isolados bacterianos oriundos das amostras de carne de frango.....                | 49 |
| <b>Figura 7:</b> Níveis de resistência observados nos isolados bacterianos oriundos das amostras de carne de boi .....                  | 49 |
| <b>Figura 8:</b> Níveis de resistência observados nos isolados bacterianos oriundos das amostras de porco .....                         | 50 |
| <b>Figura 9:</b> Níveis de resistência observados nos isolados bacterianos oriundos das amostras de peixe .....                         | 50 |

## Lista de Tabelas

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1:</b> Quantidade de amostras coletadas por cada tipo de carne .....   | 32 |
| <b>Tabela 2.</b> Contagem bacteriana média a partir de cultura total e cultura seletiva de amostras de diferentes tipos de carne obtidos no varejo da cidade de Juiz de Fora, entre o período de novembro de 2017 a julho de 2018..... | 37 |
| <b>Tabela 3:</b> Distribuição dos microrganismos isolados nos diferentes meios de cultivo, segundo seus aspectos morfotintoriais após coloração pelo método de Gram.....   | 38 |
| <b>Tabela 4:</b> Interpretação presuntiva dos resultados obtidos no TSI. ....  | 40 |
| <b>Tabela 5</b> Isolados resistentes aos antimicrobianos nas diferentes amostras de carne.....   | 44 |
| <b>Tabela 6:</b> Índice de múltipla resistência aos antibióticos.....  | 44 |
| <b>Tabela 7:</b> Características fenotípicas de resistência dos isolados.....  | 46 |

## Lista de abreviaturas e siglas

**ABE-** Bile esculina

**AEMB-** Ágar Eosina Azul de Metileno

**AMC-** Amoxicilina/ácido clavulânico

**AMH-** Ágar Miller Hilton

**AMI** – Amicacina

**AMP** – Ampicilina

**ATM-** Aztreonam

**BGN-** Bacilo Gram-negativo

**BGN F+-** Bacilo Gram-negativo fermentador forte

**BGN NF-** Bacilo Gram-negativo Não-fermentador

**BGP-** Bacilo Gram-positivo

**BHI-** Ágar Infusão cérebro-coração

**CAZ-**Ceftazidima

**CBGN-** Coco bacilo Gram-negativo

**CFO-**Cefoxitina

**CFZ-**Cefazolina

**CGP-** Coco Gram-positivo

**CIP-**Ciprofloxacina

**CLO-**Cloranfenicol

**CLSI-** “Clinical Laboratory Standards Institute” - Instituto de Padronização para Laboratórios Clínicos

**CPM-** Cefepime

**CRO-**Ceftriaxona

**ESBL-** Beta-lactamase de espectro estendido

**GEN-** Gentamicina

**LEV-** Levofloxacin

**MPM-** Meropenem

**SUT-** Sulfametoxazol/Trimetoprim

**TET-** Tetraciclina

**TSA-** Teste de susceptibilidade antimicrobiano

**TSI-** Triple Sugar Iron – Ágar Triplice Açúcar Ferro

**UFJF-** Universidade Federal de Juiz de Fora

## 1. SUMÁRIO

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| <b>1</b>  | <b>INTRODUÇÃO</b>  | 14 |
| <b>2</b>  | <b>REVISÃO DA LITERATURA</b>   | 16 |
|           | 2.1. Resistência aos antimicrobianos no século XXI   | 16 |
|           | 2.1.1 Principais classes de antimicrobianos  | 17 |
|           | 2.1.2 Mecanismos de resistência aos antimicrobianos  | 19 |
|           | 2.1.3 Epidemiologia e reservatórios de Bastonetes Gram negativos resistentes aos antimicrobianos | 20 |
|           | 2.2. Ecologia da resistência aos antimicrobianos: rotas de disseminação                          | 22 |
|           | 2.3. Alimentos como reservatórios de microrganismos resistentes                                  | 24 |
|           | 2.4. Produção e consumo de carnes no Brasil  | 26 |
|           | 2.4.1 Risco sanitário e segurança dos alimentos  | 27 |
| <b>3</b>  | <b>OBJETIVOS</b>   | 30 |
|           | 3.1. Objetivo geral  | 30 |
|           | 3.2. Objetivos específicos   | 30 |
| <b>4</b>  | <b>MATERIAL E MÉTODOS</b>  | 31 |
|           | 4.1. Coletas das amostras e processamento  | 31 |
|           | 4.2. Isolamento e análise quantitativa dos microrganismos  | 33 |
|           | 4.3. Identificação de espécies de bastonetes Gram-negativos                                      | 33 |
|           | 4.3.1. Identificação bioquímica  | 33 |
|           | 4.4. Teste de susceptibilidade aos antibióticos  | 34 |
|           | 4.5. Perfil de múltipla resistência  | 35 |
|           | 4.6. Análise Estatística   | 35 |
| <b>5</b>  | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>  | 36 |
|           | 5.1. Análise quantitativa de isolados por cada tipo de carne                                     | 36 |
|           | 5.2. Características bioquímicas dos bastonetes Gram-negativos                                   | 39 |
|           | 5.3. Resultado do teste de suscetibilidade a drogas antimicrobianas                              | 43 |
| <b>6</b>  | <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>  | 54 |
| <b>7.</b> | <b>CONCLUSÕES</b>  | 55 |
| <b>8</b>  | <b>REFERÊNCIAS</b>   | 56 |
| <b>9</b>  | <b>APÊNDICES</b>   | 72 |
| <b>10</b> | <b>ANEXO</b>   | 82 |

## 2. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde, a resistência aos antimicrobianos é um problema global, sendo um dos maiores desafios da saúde pública atualmente. A disseminação de microrganismos resistentes resulta no surgimento de infecções de difícil tratamento, onde poucos ou nenhum dos antimicrobianos disponíveis no mercado tem efeito, o que se leva a acreditar na eminência de uma segunda era pré-antimicrobiana.

Ao longo dos últimos anos, a incidência de infecções por microrganismos resistentes tem aumentado em todo o planeta, e no momento atual, estima-se que 700.000 pessoas morram a cada ano devido à resistência antimicrobiana, e esse número pode chegar a 10 milhões em 2050.

A emergência e a disseminação de linhagens resistentes são devidas principalmente ao resultado da prescrição excessiva de antimicrobianos, seu mau uso por pacientes e sua aplicação exagerada na indústria alimentícia. Apesar de a resistência aos antibióticos ter sido relacionada a ambientes hospitalares por muitos anos, estudos sobre a aquisição e transmissão de resistência atraíram a atenção de pesquisadores para outras fontes de propagação. De acordo com diversas pesquisas, os alimentos também podem ser uma fonte de linhagens resistentes, o que ressalta a importância de informações que auxiliem na compreensão e controle desse processo.

De acordo com o Ministério da Saúde, produtos de origem animal, como carnes e peixes, são considerados a maior causa de doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo, e a prevenção de surtos depende, entre outros fatores, da qualidade microbiológica da matéria prima utilizada. O uso extensivo de agentes antimicrobianos na pecuária e na aquicultura aumenta a probabilidade de que esses microrganismos contaminantes sejam portadores de genes de resistência. Através da cadeia alimentar, é possível que eles cheguem ao trato gastrintestinal humano, onde podem atuar como reservatórios de genes de resistência ou se disseminar para outros sítios corporais, resultando em infecções de difícil tratamento.

O Brasil se destaca entre os dez maiores produtores de carnes do mundo, abrangendo o comércio de produtos bovinos, suínos, frango e peixe. O país não só é um

dos maiores produtores, mas também está entre os maiores consumidores desses produtos. Atualmente, a carne de frango é a mais consumida internamente no país, seguida da carne bovina e suína. Apesar de a aquicultura ter se intensificado e expandido nos últimos anos, o país ainda não é um grande consumidor desses produtos.

A presença de microrganismos resistentes de interesse clínico-microbiológico em cortes de carne e peixes comercializados vem sendo amplamente documentada. A posição do Brasil como um dos maiores consumidores e exportadores de carne do mundo evidencia a importância da manutenção da segurança alimentar, e informações sobre a presença de microrganismos patogênicos ou potencialmente patogênicos resistentes aos antimicrobianos que possam contaminar a carne são de grande importância e relevância.

Do exposto, considerando-se a potencialidade das carnes como reservatórios de microrganismos resistentes, dentro da linha de pesquisa “Epidemiologia da resistência e resposta bacteriana aos antimicrobianos” do Laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Bacteriana, espera-se com este estudo contribuir com informações sobre a ocorrência de microrganismos patogênicos ou potencialmente patogênicos em produtos cárneos e peixes, além da determinação do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos microrganismos isolados.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Resistência aos antimicrobianos no século XXI

Logo após a descoberta dos antibacterianos, a resistência bacteriana veio em seguida. A identificação de estafilococos resistentes a penicilina ocorreu antes mesmo da produção em grande escala do primeiro antibacteriano em 1943 (HWANG, et.al., 2016).

Desde a introdução da penicilina, a pressão seletiva pelo uso dos antibacterianos fez com que os microrganismos adaptassem mecanismos para acelerar a seleção de bactérias naturalmente resistentes ou mais virulentas. O uso inapropriado de antimicrobianos tanto pelos seres humanos, como nos animais e na agricultura, contribuiu para rapidamente exacerbar o problema da resistência (HWANG, et.al., 2016).

A resistência aos antimicrobianos representa uma ameaça importante para a saúde pública global, e tornou-se um dos maiores desafios para a medicina do século XXI. O surgimento de microrganismos multirresistentes resulta em infecções que respondem a poucos ou nenhum dos agentes antimicrobianos disponíveis no mercado, o que leva alguns autores a acreditar na eminência de uma segunda era pré-antimicrobiana (APPELBAUN, 2012).

No passado, a resistência bacteriana era predominantemente associada aos ambientes hospitalares. Porém, nas últimas décadas, a resistência ganhou espaço também na comunidade (O'NEILL, 2016). O problema da resistência aos antimicrobianos tem um impacto significativo na saúde da população, no desenvolvimento e até mesmo na economia. As mortes causadas devido a bactérias resistentes aos agentes antimicrobianos são estimadas em 700.000 mortes por ano (PADIYARA, et.al., 2018)

A resistência aos antimicrobianos é um problema real, urgente e complexo, e que afeta a saúde pública das pessoas de todo o mundo. O desenvolvimento de bactérias resistentes a drogas parece estar envolvido com o uso desses medicamentos, tanto em seres humanos quanto nos animais (AARESTRUP 2008; WEGENER, 1999; WHO, 2014).

Aparentemente, as bactérias estão rapidamente adquirindo uma grande variedade de genes resistentes aos antimicrobianos, muitos destes vindo de organismos comensais encontrados em alimentos ou no trato gastrintestinal de seres humanos e animais (GÓMEZ et al, 2014).

O uso de drogas antimicrobianas tanto em animais quanto no homem é um dos fatores determinantes para o aumento da resistência antimicrobiana nos microrganismos



da microbiota residente. Cerca de 50 % dos antibacterianos produzidos são utilizados na terapia humana, e a outra metade é empregada na profilaxia, no tratamento ou como promotores de crescimento animal, e também no extermínio de pragas na agricultura (RODRIGUES, 2001).

As indústrias de alimentos e criação de animais são um crescente problema, em se tratando da resistência antimicrobiana (MARSHAL, 2011). Depois do ano de 2003, os antibacterianos passaram a ser utilizados não somente para o tratamento de doenças nos animais, mas também de forma significativa para a prevenção e como promotor de crescimento, nos Estados Unidos e na Europa. A União Européia banuiu o uso de antibacterianos como promotores de crescimento em 2006, porém em diversos países do mundo, incluindo o Brasil, essa prática continua sendo realizada (FAIR, 2014).

### 3.1.1 Principais classes de antimicrobianos

Os antimicrobianos são fármacos que podem ser produzidos a partir de compostos de origem natural, semissintética ou sintética, e seu mecanismo de ação consiste em inibir o crescimento ou causar a morte de bactérias, podendo ser classificados quanto ao seu mecanismo de ação. (WALSH, 2003; GUIMARÃES, et.al. 2010). Uma dessas classes são os  $\beta$ - Lactâmicos, que representam a classe de antimicrobiano mais prescritos atualmente, principalmente por causa da eficiência terapêutica e baixa toxicidade. Neste grupo fazem parte a penicilina, cefalosporina, carbapenem e monobactâmico ( BAPTISTA, 2013).

Esses fármacos possuem ação antibacteriana e são responsáveis por obstruir a enzima transpetidase da bactéria onde é feita a transpeptidação entre as cadeias de peptideoglicano de sua parede celular. Essa enzima possui importância estrutural para a formação da parede celular bacteriana, pois ela confere a bactéria uma estrutura essencial a sua proteção. ( GUIMARÃES, et.al.,2010).

Os aminoglicosídeos são outra classe de antimicrobianos os quais pertencem fármacos de relevante importância terapêutica no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas aeróbias e também Gram positivas quando associado com outras drogas. Os principais representantes desse grupo são a gentamicina, amicacina e estreptomicina. Essa classe de antimicrobiano atua inibindo a síntese das proteínas das bactérias, por se ligarem a subunidade 30S do ribossomo bacteriano inibindo a sua

função, sendo uma classe de medicamento utilizado mais ativamente para o combate de bactérias Gram-negativas entéricas (WALSH, 2003; BROOKS et.al., 2014).

As quinolonas são análogos sintéticos do ácido nalidíxico. O mecanismo de ação envolve a inibição da síntese bacteriana do DNA ao bloquear a DNA girase. As primeiras quinolonas não atingiam níveis antibacterianos sistêmicos após a administração oral e, por conseguinte, eram úteis para a utilização no tratamento de infecções do trato urinário. ( BROOKS et.al., 2014). As fluorquinolonas são agentes bactericidas pertencentes a classe dos fármacos sintéticos. É um antimicrobiano mais recente no mercado em comparação com os outros, sendo uma poderosa droga no combate de bactérias Gram negativas e Gram positivas. As fluorquinolonas descendem das quinolonas. As fluorquinolonas agem diretamente na enzima topoisomerase, inibindo assim a síntese de DNA e conseqüentemente a transcrição do material genético em RNA e a formação de proteínas ( CAÇO, 2008).

As tetraciclina são concentradas por bactérias suscetíveis e inibem a síntese das proteínas pela inibição da ligação do aminoacil-RNA à subunidade 30S dos ribossomos bacterianos, sendo as bactérias resistentes capazes de não concentrar o fármaco. Essa resistência é oriunda de plasmídeos transmissíveis (GUIMARÃES et.al., 2010; BROOKS et.al., 2014).

O cloranfenicol é uma substância originalmente produzida a partir de culturas de *Streptomyces venezuelae*, mas atualmente é fabricado sinteticamente. O cloranfenicol é um composto estável que sofre rápida absorção pelo trato gastrointestinal distribuindo-se pelos tecidos. Essa droga é um potente inibidor da síntese das proteínas nos microrganismos, bloqueando a ligação dos aminoácidos à cadeia peptídica, é um fármaco principalmente bacteriostático. ( BROOKS et.al., 2014).

As sulfonamidas são antimicrobianos bacteriostáticos de origem sintética importante no tratamento de infecções por Gram negativos e Gram positivos. O sulfametoxazol é um dos representantes dessa classe, que quando combinado com o trimetoprim aumenta sua eficiência, inibindo a síntese do ácido fólico. (BAPTISTA, 2013; GUIMARÃES, et.al., 2010). O uso simultâneo das sulfonamidas com trimetoprima resulta em sinergismo antibacteriano. Isoladamente a sulfonamida pode ser utilizada no tratamento de infecções por nocardioses e nas crises iniciais de infecções do trato urinário causadas por coliformes. A trimetoprima isoladamente pode ser eficaz no tratamento de infecções das vias urinárias. ( BROOKS et.al., 2014).

### 3.1.2 Mecanismos de resistência aos antimicrobianos

Análises de sequências de genomas de diferentes espécies bacterianas tem demonstrado que parte do genoma resulta de transferência horizontal de genes por três mecanismos: transformação, conjugação e transdução (AARESTRUP, 2006).

A resistência adquirida pode decorrer de alterações genéticas no genoma bacteriano, as quais podem ser uma consequência de mutações ou aquisição horizontal de genes exógenos localizados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos, transposons e integrons (AARESTRUP, 2006; MARSHAL, et al, 2011).

Os mecanismos de resistência são tipicamente codificados pelos chamados genes de resistência aos antimicrobianos (ARGs). O uso de antibacteriano acaba por acelerar a seleção de bactérias patogênicas carregando esses genes (CANTON, 2011).

Os mecanismos de resistência aos antimicrobianos incluem a inativação enzimática da droga, mecanismo que ocorre devido a produção de enzimas que degradam ou inativam o antibacteriano, como por exemplo, a produção de beta-lactamases que hidrolisam o anel beta-lactâmico das penicilinas e cefalosporinas (KUMAR & VARELA, 2013). Várias bactérias Gram-positivas e Gram-negativas produzem beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), que é um tipo de beta-lactamase codificado por genes plasmidiais, tais como CTX-M, que apresenta muitas variantes e produtos de tradução muito diversos, que conferem resistência a todas as penicilinas e cefalosporinas de terceira geração, mas não as cefamicinas e carbapenêmicos (BLAIR et al., 2015.). Há registros na literatura de mais de 180 ESBLs identificadas que são principalmente produzidas por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e outras bactérias da família Enterobacteriaceae (BAPTISTA, 2013).

As bactérias também podem modificar o alvo dos antibacterianos, impedindo a atividade do alvo. Algumas mudanças estruturais acabam por prevenir a ligação efetiva entre o alvo e o antibiótico. As proteínas ligadoras de penicilinas (PBP), que são responsáveis pela ligação cruzada entre os polímeros de ácido N- acetilmurâmico e N-acetilglucosamina precursores do peptídeoglicano formador da parede celular, quando apresentam mutações nos genes que as codificam, produzem PBPs que apresentam afinidade reduzida ao fármaco (DZIDIC; SUSKOVIC; KOS, 2008)

As bombas de efluxo são proteínas de membrana que exportam os antibacterianos para o meio extracelular, mantendo as concentrações intracelulares em níveis baixos. É um mecanismo que afeta principalmente os macrolídeos, tetraciclina e as

fluoroquinolonas (DZIDIC; SUSKOVIC; KOS, 2008). As bactérias também podem alterar a permeabilidade da membrana. Os fármacos podem penetrar a membrana celular por meio de 3 mecanismos: difusão simples através da bicamada fosfolipídica, difusão facilitada mediada por proteínas ou *self promoted uptake*, onde a penetração do fármaco depende das características físico-químicas, como polaridade e tamanho (BAPTISTA, 2013). Modificações no conteúdo de lipopolissacarídeos (LPS), estrutura e quantidade de porinas alteram a permeabilidade de fármacos, como beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, cloranfenicol e fluorquinolonas, em bactérias Gram-negativas (DZIDIC; SUSKOVIC; KOS, 2008).

Estimativas realizadas já demonstraram que se não houver qualquer intervenção para reverter a situação da resistência bacteriana, mais de 10 milhões de pessoas poderão morrer nas próximas décadas, e haverá um custo adicional para a economia mundial em torno de 100 trilhões de dólares no ano de 2050 (O'NEILL, 2016).

### 3.1.3 Epidemiologia e reservatórios de Bastonetes Gram negativos resistentes aos antimicrobianos

A incidência de infecções causadas por bacilos Gram negativos resistentes as drogas antimicrobianas vem crescendo em todo o mundo moderno (BOUCHER et. al, 2009; MARCHAIM et.al., 2012). A grande maioria dos patógenos que conseguem sobreviver a doses terapêuticas dos antimicrobianos são bastonetes Gram negativos como *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, espécies de *Enterobacter* e *Escherichia coli* (BOUCHER et. al, 2009; BOGAN, et.al., 2013).

A extensão da resistência aos antimicrobianos entre os bacilos Gram negativos é muito ampla, sendo que para o combate desses bacilos se utilizam principalmente agentes beta-lactâmicos, que são as opções terapêuticas mais seguras e baratas. A resistência aos agentes beta-lactâmicos pode ser considerada como marcador epidemiológico para esses bastonetes Gram-negativos (TACCONELLI et.al., 2014; TAL-JASPER et.al., 2016).

Um dos maiores problemas de resistência dos últimos 20 anos é a rápida emergência de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) primeiramente notificado em meados de 1990 em unidades intensivas de tratamento em hospitais (FALAGAS,

2009). A rápida disseminação de ESBL está vinculada a vários fatores, como baixa sanitização e higiene em ambientes hospitalares (HAWKEY, 2015).

A produção moderna de alimentos facilitou a emergência e disseminação da resistência devido ao uso intensivo de agentes antimicrobianos (AARESTRUP, 2008). A pressão seletiva exercida tanto por antimicrobianos como biocidas (desinfetantes, preservantes de alimentos, descontaminantes) talvez tenham forçado a seleção e disseminação de resistência através da cadeia alimentar (CAPITAR, 2013).

Há uma grande quantidade de antimicrobianos administrados como promotores de crescimento em animais de produção, e a transferência de resistência para os seres humanos através dos alimentos pode ocorrer devido ao uso desses agentes por um longo período de tempo. Os fármacos veterinários e seus metabolitos podem ser liberados no meio ambiente diretamente, através do uso em aquicultura e no tratamento de animais de pasto ou indiretamente por aplicação de estrume no plantio (BOXALL et al., 2004) O alcance dos antibióticos vem sendo detectado em solos, águas superficiais, sedimentos, e na água que rodeia esses estabelecimentos de criação de animais (HIRSCH et.al., 1999; KOLPIN et.al., 2002).

A matéria fecal dos seres humanos é uma das grandes fontes de bacilos Gram negativos multirresistentes a drogas dentro de ambientes hospitalares, que são selecionados por terapia antimicrobiana. Essas bactérias inicialmente presentes no ambiente hospitalar se disseminaram pela comunidade e meio ambiente, podendo transferir material genético para as bactérias residentes desses ambientes, agravando o problema da resistência (WELLINGTON et.al., 2013)

O sedimento de rios vem se revelando como um reservatório substancial de genes de resistência a antimicrobianos. Alguns trabalhos, ao realizarem uma análise metagenômica, demonstraram que esses genes de resistência estavam presentes tanto em bactérias cultiváveis como em bactérias não cultiváveis (AMOS et.al., 2014).

A produção mundial de carne vem crescendo rapidamente, principalmente de aves e de porco, em países como a China, que produz respectivamente 17,6 milhões de toneladas de aves e 62 milhões de toneladas de porco, segundo o levantamento da FAO de 2011 (FAO, 2011; HAWKEY, 2015).

A aquicultura é outro aspecto preocupante da utilização dos antimicrobianos, assim como a agricultura. Em alguns países escandinavos o uso de antimicrobianos em aquicultura vem sendo reduzido devido ao desenvolvimento de vacinas e outros métodos

alternativos de criação de peixes, porém isso não ocorre em países de águas quentes, onde antimicrobianos são extensamente utilizados, principalmente quinolonas. Os países asiáticos são os maiores produtores e consumidores dessa carne, sendo que a produção da China em 2008 representou 62 % da produção mundial (FAO, 2011; HAWKEY, 2015). O primeiro estudo de bactérias resistentes a antibióticos oriundos da criação de peixes demonstrou a presença de ESBLs e plasmídeos carreadores de genes de resistência a quinolonas encontrados em *Escherichia coli* oriundos dos peixes (JIANG et.al., 2012).

### 3.2 Ecologia da resistência aos antimicrobianos: rotas de disseminação

Os antibióticos têm sido naturalmente produzidos por bactérias e fungos ao longo de milhões de anos (D’COSTA et. al., 2011). Apesar da resistência aos antimicrobianos ser um fenômeno que ocorre naturalmente, como resultado da seleção natural, atividades antropogênicas tem contribuído para o aumento da frequência com que ela ocorre (WILLERS et al., 2016). A prescrição excessiva ou inadequada de antimicrobianos na medicina humana e veterinária, o seu uso como promotor de crescimento na produção animal, na indústria alimentícia como um todo, e o seu uso incorreto por pacientes favorecem a pressão seletiva em patógenos e microrganismos comensais, e conseqüentemente, favorecem a propagação de linhagens resistentes (FAIR & TOR, 2014; ROCCA et al., 2015).

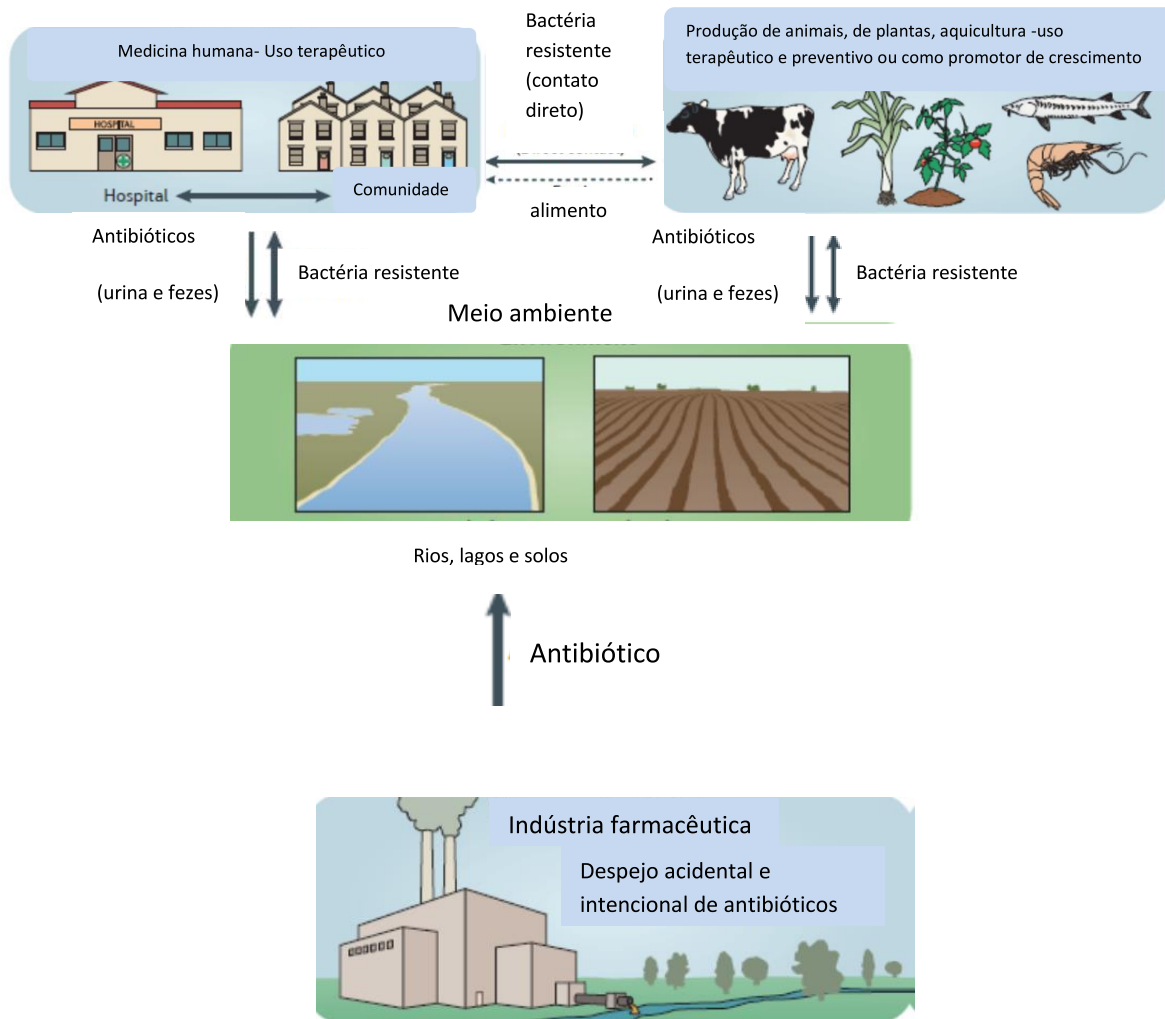
O uso generalizado dos antimicrobianos gera um grave problema de resistência, pois a ecologia dessas drogas mostra como elas estão circulando entre os diferentes ambientes, tais como os ambientes hospitalares, na agricultura, na criação de animais, na indústria farmacêutica e no meio ambiente em geral (D’COSTA et. al. 2011). Assim, os reservatórios de antimicrobianos, os seres humanos, a criação de animais e o meio ambiente estão intimamente conectados, o que auxilia para a manutenção do ciclo de antimicrobianos circulantes *versus* o contato com as bactérias, entre os ambientes *in vivo* e *ex vivo* (BAQUERO, et. al., 1998; D’ COSTA et. al, 2011).

Os tratamentos de seres humanos e dos animais com antimicrobianos os tornam disseminadores de microrganismos resistentes. O uso clínico dos antimicrobianos em seres humanos pode levar a efeitos colaterais e alterar a composição da microbiota, principalmente se o tratamento for prolongado (SJOLUND, et.al. 2003). As alterações são provenientes de concentrações letais ou sub-letais de antimicrobianos nas mucosas, como no intestino (GUSTAFSSON et. al., 2003; SJOLUND et.al., 2005).

A aplicação dos antimicrobianos na agricultura se dá principalmente pelo seu uso como promotor de crescimento em animais de produção, sendo que a sua administração se dá por doses sub-terapêuticas (LOVE et. al., 2011; WALLINGA et.al., 2013). Com isso, tanto a microbiota residente como os microrganismos patogênicos presentes nesses animais serão expostos aos antimicrobianos, sendo que essa exposição pode durar todo o período de produção, que dependendo da espécie pode ser de meses ou anos (AARESTRUP, 2012; WALLINGA, 2013).

No ambiente *ex vivo*, as bactérias estão frequentemente expostas a baixos níveis de antimicrobianos, devido à produção natural desse composto por bactérias e fungos, e também pelo uso de antimicrobianos na agricultura, na pecuária, na aquicultura, e pela poluição industrial (KHAN, et al. 2013).

O uso dos antimicrobianos em plantações, como aditivos alimentares para animais, na aquicultura e na terapia humana terá como destino final a contaminação dos ambientes externos, como rios, lagos, solos e até mesmo de produtos alimentícios, como carnes e leite, sendo estes os principais reservatórios responsáveis pela disseminação da resistência bacteriana (Figura 1). (PRESCOTT et. al., 2008; ANDERSSON et. al., 2014; HAWKEY, PM., 2015).



**Figura 1:** Rotas de disseminação da resistência bacteriana. Adaptado ANDERSSON, et. al., 2014

### 3.3 Alimentos como reservatórios de microrganismos resistentes

Os antimicrobianos são adicionados extensivamente na alimentação de animais como promotores de crescimento e para prevenir doenças. A aplicação de baixas doses de antibióticos em animais pode contribuir para o surgimento de genes resistentes a antimicrobianos (MANTILLA et.al., 2008)

Ao longo dos anos, o agravamento do problema da resistência bacteriana vem aumentando com o aumento do uso dos antimicrobianos como promotores de crescimento e para fins terapêuticos na criação de animais para a produção. A ingestão de alimentos contendo resíduos de antimicrobianos pode ocasionar a resistência



bacteriana a esses fármacos, que são utilizados na terapêutica humana (TRABULSI et. al., 1989; MONTELLI et. al., 2001; MANTILLA et. al., 2008; BRAZ et. al., 2008).

Produtos de origem animal tais como carnes, peixes, leite e laticínios são potenciais meios pelos quais as bactérias comensais e patogênicas resistentes a antimicrobianos podem ser transmitidas do animal para o homem (HANNAH, et. al., 2009).

Alguns estudos abordaram a resistências de bactéria Gram-positivas em alimentos. Rapini e colaboradores (2004), em um estudo realizado com queijo do tipo coalho comercializado em praias no Nordeste do Brasil, isolaram 45 bactérias do gênero *Staphylococcus*, dentre estes, 22 isolados de *Staphylococcus aureus*. Os autores realizaram o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos e verificaram que todos os isolados (100%) apresentaram resistência a penicilina, 91% a tetraciclina, seguido de vancomicina (75,5%), gentamicina (71,1%) e oxacilina (66,7%). Dentre os isolados de *S. aureus*, 90,9% apresentaram resistência a gentamicina, 81,8% a tetraciclina e 72,7 % a oxacilina (RAPINI, et. al., 2004).

Em 2007, um estudo realizado por Francalanza e colaboradores avaliou a presença de *Enterococcus* spp. em carnes de aves e leite na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. Foram analisadas 50 amostras (25 amostras de carne de aves e 25 amostras de leite pasteurizado), onde foram isoladas 167 bactérias da carne do frango e 127 do leite pasteurizado. Estes isolados mostraram-se resistentes aos antimicrobianos, sendo mais relevante a resistência à tetraciclina (31,2%), eritromicina (23,8%) e estreptomicina (11,3%) (FRACALANZZA, et. al., 2007).

Na Turquia foi realizado um estudo para averiguar a presença de espécies de *Enterococcus* resistentes aos antimicrobianos em amostras de frango. Foram analisados 122 cortes de frango e isolados 97 *Enterococcus* spp., identificados como *Enterococcus faecium* (61,85%) e *Enterococcus faecalis* (38,15%) (SANLIBABA et. al., 2018). Os isolados revelaram resistência a canamicina (98,96%), rifamicina (80,41%) e ampicilina (60,82%). Também se observou a resistência eritromicina (38,14%) e a ciprofloxacina (34,02%). Resistência a tetraciclina (9,27%), penicilina G (8,24%), cloranfenicol (3,09%), gentamicina (2,06%) e estreptomicina (1,03%) foi menos frequente (SANLIBABA, et. al. 2018).

Liu e colaboradores (2018) analisaram a presença de *Streptococcus agalactiae* oriundo da criação de tilápias na China e o perfil de susceptibilidade dessa bactéria aos agentes antimicrobianos. Foram isoladas 75 linhagens de *S. agalactiae*, e dentre estes isolados, resistência foi observada em 100% para ácido pipemídico (quinolona específica

para o tratamento das infecções do trato urinário, causado por microrganismos Gram-negativos, inclusive *Pseudomonas*, além de Gram-positivos) gentamicina, neomicina, canamicina e estreptomicina. Para norfloxacin e trimetropim, a resistência foi superior a 90%, e para penicilina, ampicilina e ciprofloxacina, 37,3% dos isolados foram resistentes (LIU, et.al., 2018).

Atualmente alguns estudos vêm demonstrando a presença de bactérias Gram-negativas resistentes em determinados alimentos, como um estudo realizado na China, que analisou a presença de *Escherichia coli* resistente aos antimicrobianos em carne de frango. Nesse estudo, foram coletadas amostras de carne de frango de supermercados de quatro províncias chinesas. Das 576 amostras coletadas verificou-se a presença de *E. coli* em 398 amostras, uma prevalência de 69,1% (WU, et. al., 2014). O teste de susceptibilidade aos antimicrobianos mostrou que cerca de 96,2% (383 de 398) dos isolados de *E. coli* exibiram resistência a pelo menos 1 dos 14 antimicrobianos testados. A resistência foi mais comum em antimicrobianos como tetraciclina (84,4%), seguida de ácido nalidíxico (74,1%), ampicilina (71,1%), trimetropin (70,1%), amoxicilina (68,8%) e estreptomicina (58,5%) (WU, et. al., 2014).

Em outro estudo realizado com 645 amostras de carnes (183 de porco, 136 de bife de boi, 235 de frango e 91 de carne de carneiro), foi isolado *E. coli* em 179 das amostras, e a resistência foi observada principalmente contra estreptomicina (78,2%), seguido de tetraciclina (74,3%), trimetropim (54,2%) e ácido nalidíxico (52,5%). Neste estudo também foi observada a presença de beta-lactamases de espectro ampliado (ESBL) em cerca de 30 dos 179 isolados (16,7%) (YU, et. al., 2015).

### 3.4 Produção de carnes no Brasil

A produção de animais para abate vem crescendo ao longo dos anos no Brasil devido a diversos fatores. No caso da carne bovina, a grande disponibilidade de terras e de insumos para ração, o clima favorável e condição sanitária adequada torna o custo do bovino baixo em razão do sistema extensivo, onde o boi é criado no pasto. Para as carnes de frango e suínos, o sistema integrado de produção, o eficiente sistema logístico, a engenharia genética, o controle ambiental e a disponibilidade de insumos para ração tornam a produção mais adequada (USDA, 2016).

O Brasil possui o segundo maior rebanho de gado do mundo, ficando atrás apenas da Índia, e é o segundo maior exportador de carne bovina. A carne vermelha é a segunda mais consumida no território, perdendo apenas para a carne de frango (USDA, 2016).

A carne de frango além de ser a mais consumida no Brasil, é a mais exportada (USDA, 2016). Os maiores consumidores da carne avícola brasileira são os países da União Europeia, Arábia Saudita e Japão (SECEX, 2015).

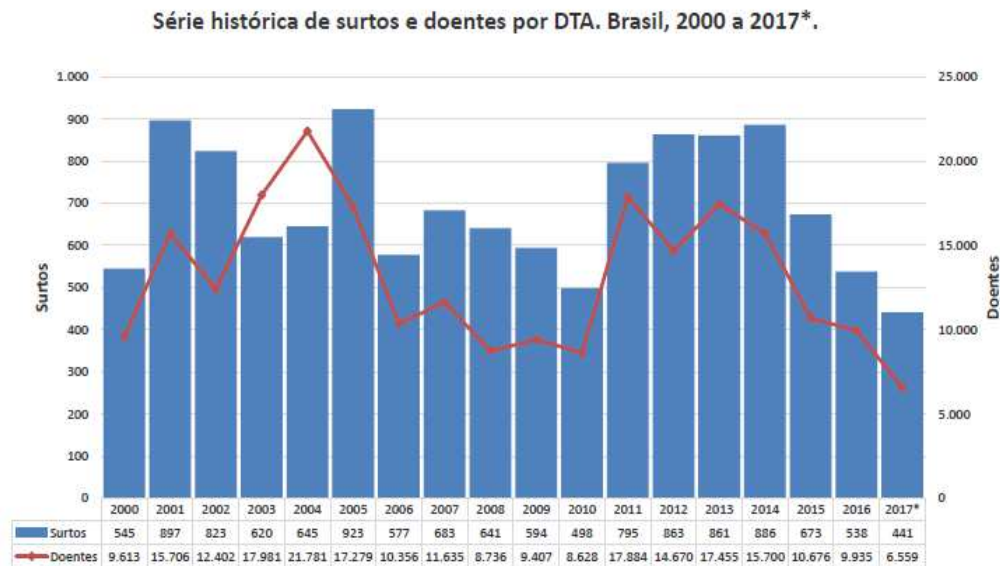
A suinocultura representa 13,5% da produção de animais no país, sendo o Brasil o quarto maior produtor de suínos desde o ano 2000 (USDA, 2016). Analisando o cenário mundial, a carne suína é a mais consumida no mundo, seguida de aves e bovinos, sendo a China o maior consumidor (USDA, 2016).

Com relação a produção de peixes, a aquicultura é uma atividade agropecuária que vem crescendo no Brasil e no mundo. De acordo com Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), a aquicultura é responsável por metade da produção de peixes e moluscos consumidos pela população mundial (SEBRAE, 2015). O Brasil aparece na décima segunda posição em termos de produção de peixes, não tendo um mercado tão expressivo como a produção de suínos bovinos e frangos (FAO, 2014). As espécies de peixes mais produzidas na aquicultura brasileira são a tilápia, que representa 43% da produção, o tambaqui, com 23% e o tambacu e tambatiga, com 15% (IBGE-SIDRA,2013; SEBRAE, 2015).

#### 3.4.1 Risco sanitário e segurança dos alimentos

A Organização Mundial de saúde define a higiene dos alimentos como o conjunto de medidas destinadas a garantir ou reforçar a comestibilidade e a segurança para o consumo humano de determinados alimentos ou de alimentos em geral, com a abrangência de todos os aspectos da produção, colheita, elaboração, distribuição e preparação dos alimentos, bem como todas as possíveis causas de toxicidade (física, química ou microbiológica). (OMS)

No Brasil, os dados de levantamento epidemiológico de doenças transmitidas por alimentos demonstram que uma alta prevalência de surtos são causadas por patógenos presentes em alimentos e na água (Figura 2).



Fonte: Sinan/SVS/Ministério da Saúde

**Figura 2.** Levantamento epidemiológico de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Brasil, entre os anos de 2000 a 2017.

No caso de higiene de carnes, os cuidados começam com a procedência do animal vivo, cuidados sanitários a que se submetem, características dos meios de transporte, a natureza da alimentação estabelecida para o animal e o manejo (PARDI et. al., 1993; KILONZO et. al., 2013).

Nos matadouros, a contaminação pode ocorrer por pele e pêlos dos animais contendo sujidades e fezes, através de contaminação pelo conteúdo gastrintestinal, sendo que os microrganismos podem ser disseminados no preparo da carcaça, no ato da sangria, na esfolagem e na evisceração (SHARF et. al., 1972; SOFOS et. al., 2010).

A contaminação da carne também pode ocorrer através do estabelecimento onde é vendida. Os estabelecimentos onde as carnes são comercializadas precisam ser inspecionados e fiscalizados por órgãos de vigilância sanitária. A agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) tem por função fiscalizar e instituir normas e padrões sanitários satisfatórios para a saúde humana (ANVISA, 2001).

A Resolução N<sup>o</sup>12 da ANVISA de 02 de janeiro de 2001 teve por objetivo estabelecer padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano. Os critérios utilizados para estabelecer os padrões microbiológicos nos alimentos são considerados isoladamente ou em conjunto, tais como caracterização dos

microrganismos e/ou suas toxinas consideradas de interesse sanitário, classificações dos alimentos segundo o risco epidemiológico, métodos de análise que permitam a determinação dos microrganismos, e o plano de amostragem (ANVISA, 2001).

O padrão microbiológico estabelecido pela resolução determina que em carnes resfriadas ou congeladas *in natura* de bovinos, suínos e outros mamíferos deve-se apresentar ausência de *Salmonella* sp. em 25g de produto. As carnes de aves congeladas ou resfriadas devem apresentar número mais provável (NMP) máximo de  $5,0 \times 10^3$ , e para a presença de coliformes termotolerantes é tolerado a presença até  $10^4$ . Para pescado, o NMP máximo para *Staphylococcus aureus* é de  $5,0 \times 10^2$  /grama e ausência de *Samonella* sp. em 25g de produto. A presença de coliformes termotolerantes/grama de produto é tolerada até  $10^2$ .

A ingestão de alimentos minimamente processados, como as carnes frescas, está altamente implicada na disseminação de doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo, e a prevenção de surtos depende, entre outros fatores, da qualidade microbiológica da matéria prima utilizada. Possíveis contaminações microbianas podem ser oriundas do abate, onde frequentemente há contato da carne com os conteúdos intestinais do animal, e de biofilmes formados pelos microrganismos nas superfícies de trabalho e ferramentas utilizadas no processamento da carne (KILONZO-NTHENGE, ROTICH E NAHASHON, 2013).

Assim, o uso extensivo de agentes antimicrobianos na pecuária e na aquicultura aumenta a probabilidade de que microrganismos associados sejam portadores de genes de resistência. Através da cadeia alimentar, é possível que esses microrganismos resistentes a antimicrobianos cheguem ao trato gastrintestinal humano, onde podem atuar como reservatórios de genes de resistência ou se disseminar para outros sítios corporais, resultando em infecções de difícil tratamento (FAIR E TOR, 2014; LAMMIE E HUGHES, 2016).

Do exposto, é plausível entender que o uso constante e abusivo de antibióticos exerce pressão seletiva em microrganismos patogênicos e comensais, o que favorece a propagação de marcadores moleculares de resistência. Assim, informações sobre a presença de patógenos resistentes que possam contaminar alimentos de origem animal, tais como carnes e peixes, são de fundamental importância para o entendimento da circulação de marcadores de resistência e o problema da disseminação da resistência bacteriana.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

Avaliar a ocorrência de bactérias Gram-negativas, em cortes de carnes bovina, suína, aves e peixes, provenientes de açougues e peixarias, além de determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados bacterianos.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Isolar bactérias de interesse clínico-microbiológico, a partir de cortes de carnes bovinas, suína, aves e peixes de açougues e peixarias do varejo da cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais;
- Avaliar, por cultura quantitativa e qualitativa a distribuição de grupos microbianos de interesse clínico-microbiológico e sanitário nos diferentes cortes de carne, considerando-se sua natureza (frango, peixe, boi ou porco);
- Identificar, presuntivamente, por meio de provas bioquímico-fisiológicas, as bactérias isoladas dos cortes de carne;
- Avaliar o perfil de susceptibilidade dos isolados aos antimicrobianos de uso clínico-microbiológico.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Coletas das amostras e processamento

As amostras de peito de frango, patinho de boi, pernil de porco e filé de tilápia foram coletadas em diferentes açougues e peixarias do município de Juiz de Fora. A coleta das carnes se deu em diferentes regiões da cidade de Juiz de Fora (Figura3), sendo realizadas 3 coletas na região central da cidade, 3 coletas na região oeste, e 2 coletas nas outras regiões: leste, nordeste, sul, norte e sudeste, entre os meses de novembro de 2017 a julho de 2018 (tabela1). As amostras foram armazenadas em caixa térmicas e encaminhadas ao laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Bacteriana da Universidade Federal de Juiz de Fora, para posterior análise.

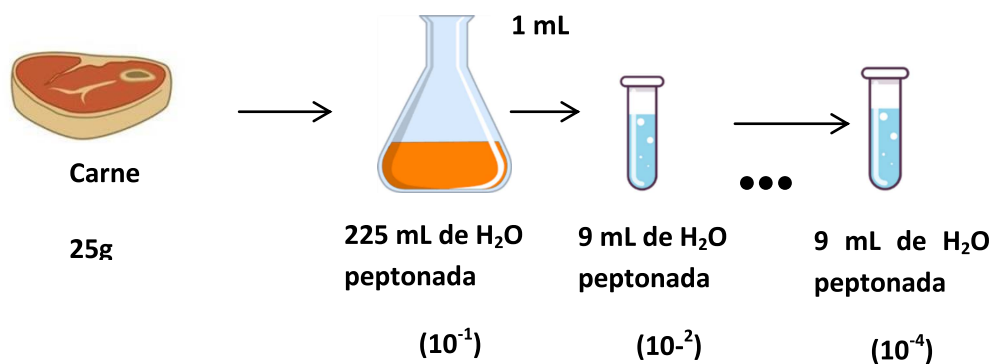


**Figura 3:** Mapa das regiões da cidade de Juiz de fora em que se realizou a coleta das carnes

**Tabela 1:** Quantidade de amostras coletadas por cada tipo de carne

| Tipo de carne   | N <sup>o</sup> de amostras |
|-----------------|----------------------------|
| Peito de frango | 16                         |
| Patinho de boi  | 16                         |
| Pernil de porco | 16                         |
| Filé de Tilápia | 16                         |
| <b>Total</b>    | <b>64</b>                  |

O isolamento dos microrganismos foi realizado a partir dos cortes das carnes que foi realizado no próprio estabelecimento comercial. Para as carnes de boi, porco e frango foram comprados 100 gramas de carne picada, e para peixe foi comprado um filé de tilápia de aproximadamente 100 gramas. Realizou-se a pesagem da carne no laboratório para obter 25 gramas de cada e a amostra foi processada e disposta em um erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada tamponada e homogeneizadas por 2 minutos em vórtex, obtendo-se assim a diluição  $10^{-1}$ . Após a homogeneização, transferiu-se 1 mL da diluição  $10^{-1}$  para um tubo contendo 9 mL de água peptonada tamponada, e assim sucessivamente, até a diluição de  $10^{-4}$  ( adaptado ONEN, et.al., 2015) (Figura 4).

**Figura 4:** Procedimento de diluição seriada para preparo das amostras. Adaptado de ONEN e colaboradores, 2015.



## 5.2 Isolamento e análise quantitativa dos microrganismos

Após homogeneização das amostras, alíquotas de 0,1 mL foram semeadas com o auxílio de alça de Drigalski nos seguintes meios de cultura: ágar Eosina Azul de Metileno (Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Índia) para contagem de colônias fermentadoras (família *Enterobacteriaceae*) ou não-fermentadoras (bastonetes Gram-negativos não fermentadores); caldo Rappaport (Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Índia) caldo seletivo e de enriquecimento para *Salmonella* spp.; ágar Hipertônico Manitol (Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Índia), para contagem de cocos Gram-positivos catalase positivos, como *Staphylococcus* spp.; ágar Bile Esculina (Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Índia), para a contagem de cocos Gram-positivos catalase negativo, como *Enterococcus* spp.; e ágar Sangue (Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Índia), que fornece condições de crescimento para a maioria dos microrganismos, como *Streptococcus* spp.

Posteriormente, os meios foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C, por um período de 24 a 48 horas. A placa de menor diluição contendo entre 30 e 300 colônias foi utilizada para estimar o número de unidades formadoras de colônias (UFC) por amostra de carne.

Dos isolados bacterianos provenientes dos diferentes meios, foram selecionadas colônias de diferentes morfotipos para serem re-isoladas em meio ágar infusão de cérebro e coração (Agar BHI) (Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Índia). Posteriormente, foi realizada a coloração de Gram para avaliar a pureza das linhagens isoladas, e a partir daí a cultura pura foi congelada em uma solução contendo caldo BHI com 20% de glicerol, e armazenada em freezer a -20°C, para posteriores análises.

## 5.3 Identificação de espécies de bastonetes Gram-negativos

### 4.3.1 Identificação bioquímica

As amostras provenientes do meio ágar Eosina Azul de Metileno foram descongeladas e semeadas em ágar BHI, a 35 °C por 24 horas.

Os isolados bacterianos foram submetidos a identificação presuntiva pela avaliação da habilidade de fermentação da lactose, sacarose e glicose, com e sem a produção de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>S, por método bioquímico-fisiológico, utilizando-se Agar TSI (Himedia

Laboratories, Índia). Neste sistema, as amostras foram inoculadas e incubadas a 35 °C por 24 horas (KONEMAN, 2006).

Concomitantemente, os bastonetes Gram-negativos também foram testados quanto a motilidade, produção de H<sub>2</sub>S e produção de indol, onde utilizou-se o meio Agar SIM (Himedia Laboratories, Índia). O Agar SIM (sulfeto-indol-motilidade) é um meio semissólido e muito utilizado para a determinação da motilidade bacteriana, que se caracteriza pela turbidez do meio ou crescimento a partir do ponto original de inoculação. A produção de H<sub>2</sub>S é indicada através do escurecimento do meio ao longo do ponto original de inoculação. A produção de indol é detectada com o aparecimento de uma coloração vermelha após adição do Reagente de Kovacs, sendo o indol produzido partir do triptofano presente no meio (KONEMAN, 2006; ALDELBERG, 2014; ALCHIERE et. al., 2016).

As amostras foram inoculadas também em Agar Citrato de Simmons (Himedia Laboratories, Índia), que é utilizado para a diferenciação de microrganismos com base na utilização de citrato como fonte de carbono. A leitura do teste baseia-se em uma reação positiva indicada pelo crescimento no tubo com uma coloração azul intensa (reação alcalina) e uma reação negativa é indicada pela inibição ou crescimento fraco, sem mudança na coloração (KONEMAN, 2006; ALDELBERG, 2014).

#### 5.4 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

O teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA) foi realizado pelo método de disco difusão em agar de acordo com *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI 2018). Foram utilizados no total 16 agentes antimicrobianos: amicacina (AMI 30µg), amoxicilina+ácido clavulânico (AMC 30 µg), ampicilina (AMP 10 µg), aztreonam (ATM 30 µ), cefazolina (CFZ 30 µg), cefepime (CPM 30 µg), cefoxitina (CFO 30 µg), ceftazidima (CAZ 30 µg), ceftriaxona (CRO 30 µg), ciprofloxacina (CIP 05 µg), cloranfenicol (CLO 30 µg), gentamicina (GEN 10 µg), meropenem (MPM 10 µg), levofloxacina (LEV 05 µg), sulfazotrim (SUT 25 µg) e tetraciclina (TET 30 µg) .

Os isolados foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas em ágar Miller Hinton (Himedia Laboratories, Índia). Os resultados foram avaliados com base na medida do diâmetro da zona de inibição em milímetros em volta de cada disco de antimicrobiano. Os resultados foram interpretados de acordo com os critérios da CLSI

2018 e classificados em sensível, intermediário e resistente. Os antimicrobianos utilizados são representativos das classes de drogas utilizadas na medicina humana.

### 5.5 Perfil de múltipla resistência

A partir dos resultados do TSA, o índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (índice MAR) foi calculado. Esse cálculo foi realizado para cada isolado, pela divisão pelo número de drogas antimicrobianas ao qual o isolado foi resistente sobre o número total de drogas testadas. O índice de MAR acima de 0,2 indica multirresistência (KRUMPERMAN, 1983).

### 5.6 Análise Estatística

Para realizar a análise estatística foi utilizado o programa Bioestat 5.3. Realizou-se o teste de análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey com nível de significância  $p < 0,05$  para averiguar a contagem bacteriana das diferentes carnes em diferentes meios de cultivo (seletivos e de enriquecimento).

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise quantitativa de isolados por cada tipo de carne.

Foram coletadas 16 amostras de carnes de frango, boi e porco e de peixe no varejo em diferentes estabelecimentos na cidade de Juiz de Fora/MG. Após o processamento das amostras e a obtenção das culturas bacterianas totais em Agar sangue (AS) e seletivas em Agar Eosina Azul de Metileno (EMB), Agar bile esculina (ABE) e Agar Hipertônico Manitol (AHM), foi obtido um painel de distribuição de grandes grupos bacterianos por tipo de carne, baseado na contagem de UFC/mL. A contagem bacteriana total em ágar sangue permitiu uma estimativa global, considerando-se microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos aeróbios obrigatórios e anaeróbios facultativos mesofílicos (Tabela 2).

Como descrito na tabela 2, a concentração bacteriana entre os diferentes tipos de carne não apresentou diferença significativa entre os meios seletivos eosina azul de metileno e bile esculina. Porém, pode-se observar que ocorreu uma diferença significativa no meio agar manitol hipertônico diferença essa encontrada entre as contagens de unidades formadoras de colônia, nas amostras de carne de frango, boi e porco quando comparadas com a contagem de unidades formadoras de colônia nas amostras de peixe nesse mesmo meio, que apresentou um crescimento bacteriano inferior em relação às outras amostras. Em relação ao meio de enriquecimento agar sangue, pode-se observar que ocorreu diferença significativa entre as contagens de unidades formadoras de colônia, nas amostras de boi e peixe.

**Tabela 2.** Contagem bacteriana média a partir de cultura total e cultura seletiva de amostras de diferentes tipos de carne obtidos no varejo da cidade de Juiz de Fora, entre o período de novembro de 2017 a julho de 2018.

| Meio de cultura | Tipo de carne disponível no varejo, contagem média de UFC/mL; |                             |                             |                             | <i>P</i> <0,05* |
|-----------------|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------|
|                 | logUFC/mL   |                             |                             |                             |                 |
|                 | Frango  | Boi                         | Porco                       | Peixe                       |                 |
| EMB             | 2,00x10 <sup>4</sup> ; 4,30                                   | 2,08x10 <sup>4</sup> ; 4,31 | 2,08x10 <sup>4</sup> ; 4,31 | 2,07x10 <sup>4</sup> ; 4,31 |                 |
| ABE             | 2,18x10 <sup>4</sup> ; 4,33                                   | 2,09x10 <sup>4</sup> ; 4,32 | 2,09x10 <sup>4</sup> ; 4,32 | 2,03x10 <sup>4</sup> ; 4,30 |                 |
| AHM             | 1,96x10 <sup>4</sup> ; 4,29                                   | 2,05x10 <sup>4</sup> ; 4,31 | 2,02x10 <sup>4</sup> ; 4,30 | 1,42x10 <sup>4</sup> ; 4,15 | a, b, c         |
| AS              | 1,98x10 <sup>4</sup> ; 4,29                                   | 2,15x10 <sup>4</sup> ; 4,33 | 2,02x10 <sup>4</sup> ; 4,30 | 1,93x10 <sup>4</sup> ; 4,28 | b               |

EMB, ágar Eosina Azul de Metileno; ABE, ágar Bile Esculina; AHM, ágar Hipertônico Manitol; AS, ágar Sangue. \*Análise estatística com significância: (a) comparação entre as contagens médias de UFC/mL entre as amostras de frango e peixe; (b) comparação entre as contagens médias de UFC/mL entre as amostras de boi e peixe; (c) comparação entre as contagens médias de UFC/mL entre as amostras de porco e peixe.

Dos isolados bacterianos provenientes dos diferentes meios, foram selecionadas colônias de diferentes morfotipos para serem re-isoladas em meio ágar BHI. Após obtenção de culturas puras e avaliação pela coloração de Gram, os microrganismos isolados foram classificados em relação suas características morfotintoriais em cocos Gram-positivos, bastonetes Gram-negativos e bastonetes Gram-positivos (Tabela 3). Foram isoladas 1.001 amostras bacterianas.

**Tabela 3:** Distribuição dos microrganismos isolados nos diferentes meios de cultivo, segundo seus aspectos morfotintoriais após coloração pelo método de Gram.

| AMOSTRAS        | CGP        | BGN        | BGP       | TOTAL DE ISOLADOS |
|-----------------|------------|------------|-----------|-------------------|
| Peito de frango | 164        | 76         | 7         | 247               |
| Patinho de boi  | 167        | 76         | 9         | 252               |
| Pernil de porco | 169        | 80         | 6         | 255               |
| Filé de tilápia | 122        | 124        | 1         | 247               |
| <b>TOTAL</b>    | <b>622</b> | <b>356</b> | <b>23</b> | <b>1.001</b>      |

CGP: cocos Gram-positivos; BGN: bastonetes Gram-negativos; BGP: bastonetes Gram-positivos

Nas amostras analisadas, e pelos meios de cultura utilizados, observou-se uma grande quantidade de cocos Gram-positivos em todos os tipos de carnes coletadas, provenientes tanto do ágar Hipertônico Manitol, quanto do ágar Bile Esculina, sugerindo que a predominância de cocos pode ter relação com sua ampla distribuição ambiental, além de serem predominantes na microbiota das superfícies externas (pele) tanto de animais quanto de seres humanos e também a grande presença de cocos pode ter ocorrido devido ao uso de dois meios seletivos próprios para cocos Gram positivos. Assim, não só o processamento, mas o contato das carnes pelos manipuladores, que podem contribuir para esse isolamento. Por outro lado, Thapaliya e colaboradores (2017) em um estudo realizado para analisar a presença de *Staphylococcus aureus* em diferentes amostras de carnes comercializadas nos Estados Unidos da América, relatou que a prevalência desses cocos era mais alta em carne de frango (53,7%) seguido pela carne de porco (15,5%) e boi (13,7%), enquanto que a carne de peixe apresentou uma baixa prevalência (6,25%). (THAPALIYA, et.al., 2017).

Apesar das carnes de frango, boi e porco apresentarem pouca diferença no número de cocos Gram-positivos, a carne de peixe apresentou uma quantidade menor em comparação com as outras. Além disso, ao considerarem-se as contagens bacterianas e o isolamento de amostras no meio ágar Bile Esculina, em uma análise da literatura sobre ocorrência desses grupos bacterianos em diferentes tipos de carne, observou-se que em geral *Enterococcus* foram relatados em amostras de carne de frango, boi porco e peru. A

contaminação desses tipos de carne por esses microrganismos é acima dos 90 % para as carnes de frango, boi e peru, e 85% para a carne de porco (TYSON et.al., 2018).

De maneira geral, a ocorrência de diferentes grupos microbianos nos diferentes tipos de carne pode ser justificada por fatores como sanidade do animal, tipos de condição do abate, transporte e armazenamento das carnes (PARDI et. al., 1993). A qualidade dos alimentos e da água ingerida podem debilitar a saúde do animal e causar doenças. O cativeiro, o tipo de manejo adotado pelos produtores e o confinamento dos animais gera um *stress* que também pode deixar o animal susceptível a doenças. As ferramentas utilizadas no abate podem contribuir para a contaminação, assim como uma evisceração mal feita. A contaminação durante o abate também pode ocorrer devido a falta de higiene dos funcionários (PARDI et. al., 1993; SARKIS, 2002).

Subsequente ao abate, a carne deve ser resfriada para armazenamento ou transporte. No transporte, as oscilações de temperatura podem favorecer o desenvolvimento microbiano (PARDI et. el., 1993; SARKIS, 2002).

A manipulação do alimento pelo trabalhador do açougue e/ou peixaria pode contribuir para o grande número de cocos Gram-positivos e bacilos Gram-negativos encontrados nas amostras, indicando que as normas de higienização não estão sendo cumpridas. A Resolução da Anvisa RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004 prevê que os manipuladores de alimentos que apresentarem lesões que comprometam a qualidade higiênico-sanitária do alimento devem ser afastados da atividade (ANVISA, 2004).

## 5.2 Características bioquímicas dos bastonetes Gram-negativos

Os 356 isolados bacterianos identificados morfotipicamente pela coloração de Gram como bacilos Gram-negativos, passaram inicialmente pelo teste presuntivo de identificação bioquímica por TSI, e de acordo com os testes bioquímicos, 60% dos isolados foram caracterizados como membros pertencentes a família *Enterobacteriaceae*, sendo o grupo predominante o de bastonetes fermentadores fortes produtores de gás (Tabela 4 ).

O grupo predominante com 140 isolados foi submetido a testes complementares de identificação bioquímica realizados por meio ágar SIM e prova de citrato . Quanto à diversidade microbiana, pode-se observar que a presença do gênero *Escherichia* se dá principalmente nas carnes de frango, boi e peixe, sendo a carne de porco que apresenta

menor proporção dessa bactéria. A presença de *Klebsiella* ocorre principalmente na carne frango e de boi, e *Enterobacter* sp. foi a espécie bacteriana mais abundante encontrada em todas as amostras de carne. A ocorrência de *Serratia* sp. foi verificada em todas as carnes, exceto na carne de frango, aparecendo principalmente na carne de peixe. A presença de *Salmonella* sp. se deu apenas na carne de porco (Figura 5).

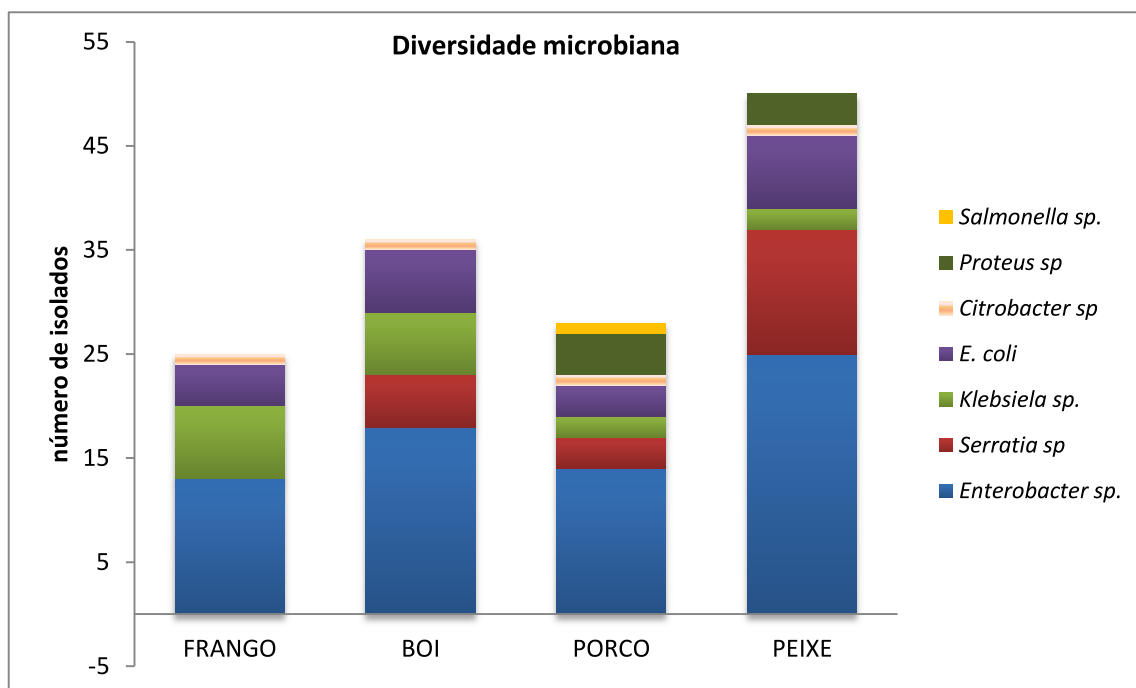
Na carne de frango ocorreu a predominância de espécies de *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp., na carne de boi a predominância se deu por espécies de *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., e *E.coli*, na carne de porco por *Enterobacter* sp., e na carne de peixe por *Enterobacter* sp., *Serratia* sp., e *E.coli*.

**Tabela 4:** Interpretação presuntiva dos resultados obtidos no TSI.

| <b>Resultado TSI</b>                              | <b>Interpretação*</b>  | <b>Grupo bacteriano provável</b>   | <b>Número de isolados</b> |
|---|--|--|---------------------------|
| Fermentador forte                                 | Fermentação glicose, sacarose ou lactose<br>Produtor de gás        | <i>Escherichia; Klebsiella; Enterobacter; Providência</i>                      | 140                       |
| Fermentador forte<br>Presença de H <sub>2</sub> S | Fermentação de glicose, sacarose, lactose, H <sub>2</sub> S +      | <i>Arizona, Citrobacter, Proteus vulgaris</i>                                  | 15                        |
| Fermentador fraco<br>Ausência de H <sub>2</sub> S | Fermentação de glicose, H <sub>2</sub> S -                         | <i>Shigella, Proteus, Providência, Serratia, Escherichia, Salmonella typhi</i> | 68                        |
| Fermentador forte                                 | Fermentação de glicose, sacarose ou lactose<br>Não produtor de gás | <i>Serratia, Yersinia</i>  | 87                        |
| Meio inalterado                                   | Ausência de fermentação  | BGN não fermentador  | 46                        |
| <b>Total</b>                                      |  |  | <b>356</b>                |

\* Os critérios de interpretação foram aqueles sugeridos no manual de Detecção e identificação de Bactérias de importância médica, Módulo 5. (ANVISA, 2004)





**Figura 5::** Diversidade microbiana dos microrganismos encontrados nos diferentes tipos de carne avaliadas.

Ainda que em baixo número de amostras, a presença de *E.coli* foi verificada em todas as carnes. No México, um estudo realizado com 106 amostras de carne (54 de boi e 52 de porco) revelou a contaminação por *E. coli* em 59 amostras (55,6%), sendo 29 amostras de carne de boi e 30 de carne de porco. Segundo o autor, a presença dessa bactéria determina baixas práticas sanitárias para manter a qualidade do alimento (VAZQUEZ, 2018).

A identificação presuntiva de coliformes termotolerantes ou *E. coli* nas carnes fornece informações sobre as condições higiênicas do produto e indicam contaminação fecal (MENDONÇA, 2012). A contaminação pode iniciar-se antes, durante, e após o abate, pelo contato da pele do animal impregnada com resíduos de fezes do animal (JAY, 2005), higiene inadequada do maquinário dos locais de compra e as mãos dos manipuladores, que são potenciais veículos de contaminação das carnes (OLIVEIRA, 2008; VAZQUEZ, 2018).

A presença de *Klebsiella* nas amostras de carnes também foi verificada em um estudo elaborado por Ramadan e colaboradores em Mansoura, no Egito, onde se observou a presença de *Klebsiella* em 80 (22,2%) das 360 amostras de frango

(RAMADAN et. al., 2017). Assim como neste trabalho, a presença de *Klebsiella* sp. se deu principalmente e em maior quantidade nas amostras de frango, seguido das amostras de boi.

A presença de *Salmonella* sp. dentro do grupo selecionado ocorreu em uma única amostra de carne de porco, esse é um dado importante que não deve ser menosprezado. A *Salmonella* sp. é considerada uma das grandes causas de gastroenterites e bacteremia em seres humanos no mundo (HENDRIKSEN, et. al., 2011). Geralmente a *Salmonella* é encontrada em frangos, ovos ou produtos derivados. No Brasil, a legislação vigente não admite a presença de *Salmonella* em 25 g de nenhum tipo de carne e seus derivados (ANVISA, 2001). Na União Europeia, a carne de porco e os produtos derivados dela evidenciam a presença dessa bactéria em 9,3% dos produtos comercializados (BONARDI, S., 2017).

Os suínos são considerados importantes reservatórios dessa bactéria. No Brasil, em um estudo realizado para verificar a prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos no Distrito Federal, foi demonstrada a presença dessa bactéria em 68,75% das amostras analisadas (165 amostras de um total de 240), ou seja, uma prevalência bem maior da verificada neste trabalho, onde apenas uma amostra das 16 de porco analisadas verificou-se a presença presuntiva de *Salmonella* sp. (SILVA et.al., 2017).

No presente estudo, de acordo com as análises bioquímicas, a prevalência de *Enterobacter* sp se deu em todas as carnes analisadas. Esses microrganismos causam um largo espectro de infecções hospitalares, como pneumonia e infecções do trato urinário. A maior parte das *Enterobacter* sp. possuem uma beta-lactamase cromossômica chamada *AmpC*, que as torna intrinsecamente resistentes a ampicilina e as cefalosporinas de primeira e segunda geração. Alguns mutantes podem fazer hiperprodução de beta-lactmases, conferindo resistência a cefalosporinas de terceira geração (BROOKS et.al., 2014). Essa bactéria pode ser encontrada em água, solo, alimentos e como comensal da microbiota intestinal de humanos e animais. Podem ser frequentemente isoladas de amostras clínicas e de alimentos como patógenos oportunistas (LUND et.al., 2000).

Em um estudo similar realizado com amostras de carne de frango, leite e queijo, o segundo fenótipo de *Enterobacteriaceae* mais prevalente nessas amostras foi *Enterobacter* sp. (6,9%) (TEKINER; OZPINAR, 2016) um pouco menor do que o encontrado nesse trabalho, que para a carne de frango foi de aproximadamente 50%. Em outro trabalho realizado na África do Sul em que se analisou a presença de bactérias em amostras de

alimentos prontos para consumo, relatou-se a presença de *E. cloacae* nessas amostras. (NYENJE et.al., 2012)

A presença de *Serratia* sp. ocorreu em todas as carnes, exceto na carne de frango. Em um estudo anterior realizado em carnes de frango e porco, observou-se uma alta prevalência de *Serratia* sp. em ambas as carnes (SCHWAIGER et.al., 2012). O presente trabalho obteve um resultado diferente, pois na carne de frango não se verificou a presença presuntiva dessa bactéria, e a apesar da carne de porco apresentar *Serratia* sp., não foi de forma abundante, sendo a carne de peixe a que apresentou uma maior concentração desse microrganismo.

Uma análise realizada com amostras de peixe no estado do Ceará, no Brasil, evidenciou a presença de *Serratia* sp. em uma amostra de peixe. Essa bactéria é um patógeno oportunista que vem sendo associado a algumas infecções. A identificação desse gênero de bactéria em amostras de peixe tem sido associada com a deterioração da carne de peixe (ALMEIDA, et.al., 2017).

Os resultados obtidos através da identificação presuntiva das bactérias isoladas das carnes estão em acordo com as descritas por Casaburi e colaboradores (2015), que demonstrou que em amostras de carnes as principais populações bacterianas encontradas são as que foram obtidas neste trabalho: *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Escherichia*, *Serratia*, *Klebsiela* (CASABURI et.al., 2015).

### 5.3 Teste de susceptibilidade a drogas antimicrobianas

Entre os isolados bacterianos representativos de bastonetes Gram-negativos (n=356), antibiograma foi determinado para 140 isolados, considerando-se um painel de 16 antimicrobianos (amicacina, amoxicilina+ ácido clavulânico, ampicilina, aztreonan, cefazolina, cefepime, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, gentamicina, meropenem, levofloxacina, sulfazotrim e tetraciclina). Desta amostragem, 76 isolados apresentaram resistência a um ou mais antimicrobianos. Em relação a fonte destes microrganismos resistentes, os dados mostram que 64% dos isolados de BGN de frango foram resistentes a pelo menos 1 droga antimicrobiana, enquanto que para as outras carnes os níveis de BGN resistentes a pelo menos 1 antimicrobiano foram 57% para carne de porco, 56% para carne de boi e 46% para carne de peixe. (tabela 5)

**Tabela 5:** Isolados resistentes aos antimicrobianos nas diferentes amostras de carne.

| <b>Amostras</b> | <b>Total de isolados</b> | <b>Resistentes(%)</b> |
|-----------------|--------------------------|-----------------------|
| Frango          | 25                       | 16 (64%)              |
| Boi             | 37                       | 21 (56%)              |
| Porco           | 28                       | 16 (57%)              |
| Peixe           | 50                       | 23 (46%)              |
| <b>TOTAL</b>    | <b>140</b>               | <b>76</b>             |

Entre as diferentes carnes avaliadas, embora 64% dos BGN isolados de carne de frango tenham se mostrado resistentes a pelo menos 1 antimicrobiano testado, a resistência múltipla a drogas foi mais frequente na carne de boi e na carne de peixe. Porém o índice de MAR foi maior (0,31) em um isolado da carne de frango (Tabela 6).

**Tabela 6:** Índice de múltipla resistência aos antibióticos.

| Isolados Resistentes | Isolados Resistentes a mais de um antibiótico | Índice MAR |                          |
|----------------------|---|------------|--------------------------|
|                      |   | <0,2       | >0,2                     |
| Amostras             |   |            |                          |
| Frango<br>n=16       | n= 8  | n= 6       | n=1 (0,25)<br>n=1 (0,31) |
| Boi<br>n=21          | n=11  | n= 8       | n=3 (0,25)               |
| Porco<br>n=16        | n=7   | n=6        | n=1 (0,25)               |
| Peixe<br>n= 23       | n=11  | n=6        | n=5 (0,25)               |

MAR>0.2 indica resistência múltipla aos antimicrobianos

A prevalência de mais isolados de peixe com um índice MAR>0,02 se torna um indicativo de que a aquicultura possui um alto risco de disseminar genes resistentes. A

abundância de bactérias multirresistentes a drogas nessa atividade pode ser um reflexo da utilização de antimicrobianos como medidas profiláticas ou terapêuticas na produção de peixes (SARTER, et.al., 2007; SEYFRIED, et.al., 2010)

Dos 76 isolados que apresentaram resistência, 39 deles apresentaram resistência a dois ou mais fármacos diferentes (cerca de 51,31 %). Pode-se observar que dos isolados da carne de frango, um deles apresentou resistência a cinco antimicrobianos diferentes (amoxicilina/ácido clavulânico; aztreonam; cefazolina; ceftazidima e tetraciclina) e as outras carnes, boi, porco e peixe apresentaram resistência a não mais que quatro antimicrobianos. (Tabela 7).

Pode-se verificar, segundo a Tabela 7 que nenhum isolado apresentou pan-resistência, ou seja resistência a todos os antimicrobianos de todas as classes testadas. Em um quadro geral, pode observar que os isolados pertencentes a família *Enterobacteriaceae* provenientes das amostras de carne podem ser descritos como multirresistentes, por apresentarem resistência a pelo menos um agente em três ou mais categorias de antimicrobianos e de resistência extensiva por apresentarem um agente em uma a duas categorias de drogas antimicrobianas. (MAGIORAKOS, et.al., 2012).

**Tabela 7:** Características fenotípicas de resistência dos isolados

| Fenótipo de resistência |                 |             |                |               |
|-------------------------|-----------------|-------------|----------------|---------------|
| Antimicrobianos         | Frango<br>n= 16 | Boi<br>n=21 | Porco<br>n= 16 | Peixe<br>n=23 |
| AMC/CFZ/CFO             | 1               | ---         | 3              | 2             |
| CFZ/CFO                 | 2               | 2           | 1              | ---           |
| AMP/CLO/SUT             | 1               | ---         | ---            | ---           |
| AMP/CFZ                 | 1               | ---         | ---            | ---           |
| AMC/ATM/CFZ/CAZ/TET     | 1               | ---         | ---            | ---           |
| AMP/AMC//CFZ/CAZ        | 1               | ---         | ---            | ---           |
| CFZ/CFO/CLO             | 1               | ---         | ---            | ---           |
| AMC/ CFZ                | ---             | 1           | 1              | ---           |
| AMP/TET                 | ---             | 1           | 1              | ---           |
| AMP/AMC/CFZ             | ---             | 2           | ---            | 1             |
| AMP/AMC/CFZ/CFO         | ---             | 3           | 1              | 4             |
| SUT/TET                 | ---             | 1           | ---            | ---           |
| CFZ/SUT/TET             | ---             | 1           | ---            | ---           |
| ATM/CLO                 | ---             | ---         | ---            | 1             |
| ATM/CFZ/CFO             | ---             | ---         | ---            | 1             |
| AMP/SUT/TET             | ---             | ---         | ---            | 1             |
| ATM/CPM/CAZ/CRO         | ---             | ---         | ---            | 1             |

AMC-amoxicilina/ác. Clavulânico; AMP-ampicilina;CFZ- cefazolina;CFO- cefoxitina; ATM- aztreonam; CLO-cloranfenicol; SUT-sulfametoxazol/trimetoprim; CAZ- ceftazidima; CRO-ceftriaxona; TET-tetraciclina

As carnes de boi e peixe foram as que apresentaram maior número de isolados multirresistentes. A multirresistência é verificada principalmente entre os fármacos beta-lactâmicos, sugerindo que a maioria dessas bactérias sejam produtoras de enzimas beta-lactamases. Como foi observado, resistência a cefalosporinas de terceira geração pode indicar a presença de enzimas beta-lactamases de espectro estendido.

O isolado proveniente da carne de frango que apresentou resistência fenotípica a cinco antimicrobianos pode indicar a presença de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), já que a resistência se deu em antimicrobianos beta-lactâmicos, sendo as ESBLs muito comuns entre os membros da família Enterobacteriaceae. A resistência a tetraciclina pode ser um indicativo da atividade de mecanismos mediados pelos chamados genes *tet* (LIVERMORE et.al., 2001). Esse isolado foi presuntivamente identificado como *Enterobacter* sp., que é uma bactéria associada a algumas infecções hospitalares. (BROOKS et.al., 2014). A resistência genotípica não foi objeto de estudo desse trabalho.

A presença do isolado de carne de boi com resistência a três antimicrobianos pertencentes a classes diferentes é preocupante (cefazolina, sulfametoxazol/trimetoprim e tetraciclina), pois é um indicativo de marcadores genéticos de resistência que podem eventualmente serem transmitidos para outras bactérias. A transferência de genes entre os microrganismos vem sendo descrita como um fator que contribui amplamente para a evolução e emergência da resistência entre as bactérias, reduzindo o potencial terapêutico contra esses patógenos (HAWKEY, 2009; MESSELE, et.al., 2017). Esse isolado foi identificado como *Serratia* sp.

Na carne de frango a prevalência de bactérias multirresistentes se deu para as espécies identificadas presuntivamente como *Enterobacter* sp. e *Klebsiella*, sendo uma espécie de *Enterobacter* resistente a cinco antimicrobianos, e duas espécies de *Klebsiella* sp., sendo uma resistente a quatro antimicrobianos (ampicilina, amoxicilina+ácido clavulânico, cefazolina e ceftazidima), sendo sugestivo de uma ESBL (beta-lactamase de espectro estendido), e a outra espécie resistente a três antimicrobianos (cefazolina, cefoxitina e cloranfenicol).

Na carne de boi dos dois isolados identificados presuntivamente como *E.coli*, um apresentou resistência ao sulfametoxazol/trimetoprim e a tetraciclina, e o outro a ampicilina, amoxicilina/ác. Clavulânico e cefazolina. Dos dois isolados de *Serratia* sp. identificados ambos apresentaram resistência a três antimicrobianos, um a cefazolina, sulfametoxazol/trimetoprim e tetraciclina e o outro a ampicilina, cefazolina e amoxicilina+

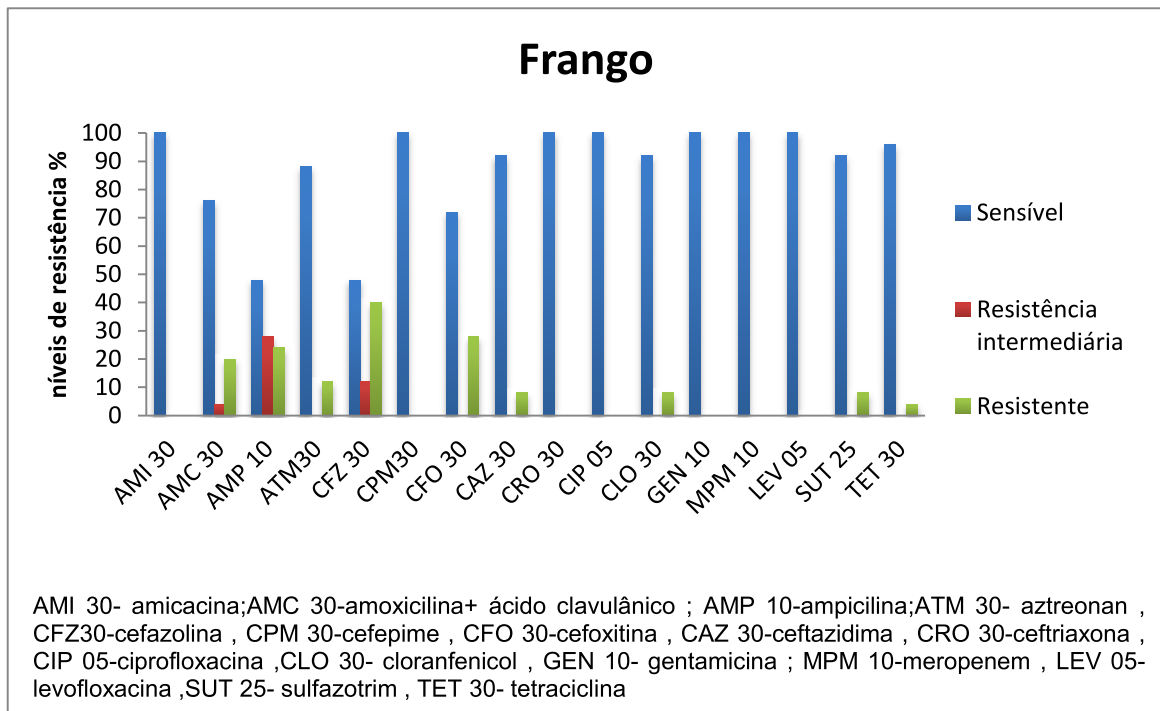
ác. Clavulânico. A única espécie de *Klebsiella* sp. identificada apresentou resistência a ampicilina e tetraciclina. Os outros isolados foram identificados como *Enterobacter* sp. , sendo que Três isolados em especial apresentaram resistência a quatro antimicrobianos ( ampicilina, amoxicilina+ác. Clavulânico, cefazolina e cefoxitina).

Na carne de porco a predominância foi de bactérias *Enterobacter* sp., ocorreu também a presença de *Serratia* sp. resistente a amoxicilina e cefazolina. Duas bactérias foram identificadas presuntivamente como *Proteus* sp. , sendo um resistente a três antimicrobianos ( amoxicilina, cefazolina e cefoxitina) e outro resistente a dois (cefazolina e cefoxitina).

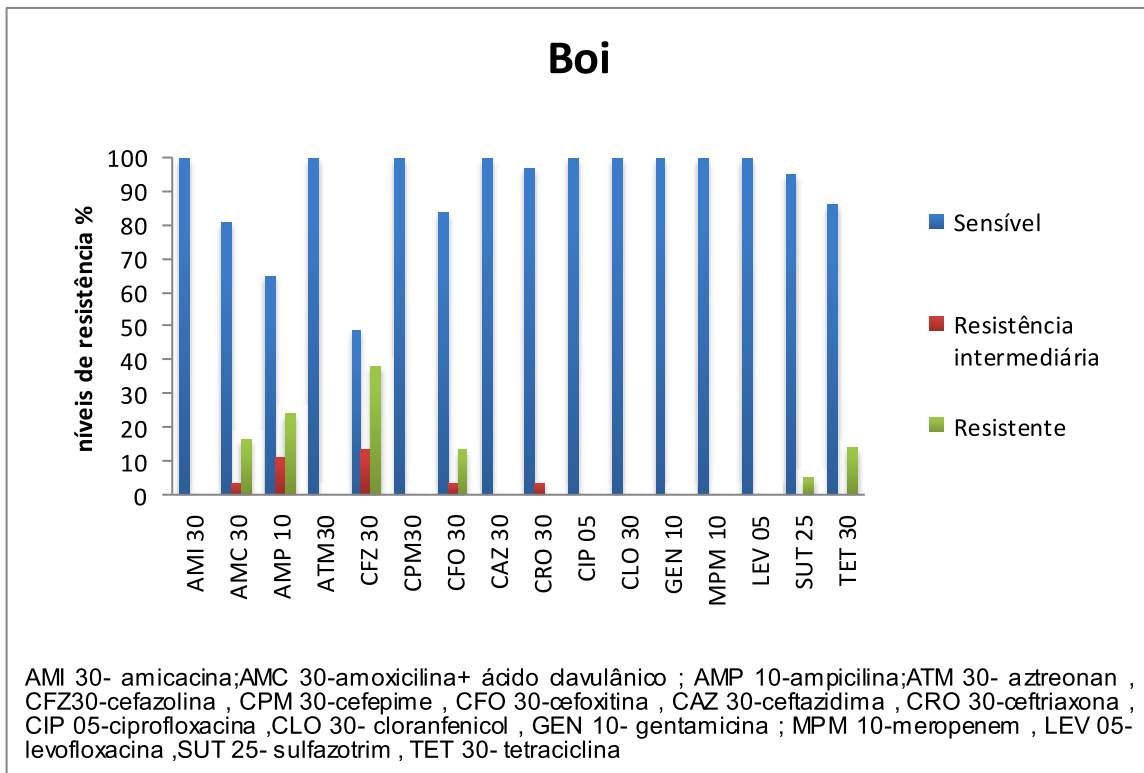
Nas amostras de carne de peixe , quatro bactérias identificadas como *Klebsiella* sp., *Serratia* sp e duas *Enterobacter* sp., foram resistentes a quatro antimicrobianos ( ampicilina, amoxicilina, cefazolina e cefoxitina) , uma espécie de *Proteus* sp. foi resistente a aztreonam e ao cloranfenicol. As bactéria identificadas como *Serratia* sp uma foi resistente a amoxicilina, cefazolina e cefoxitina e a outra foi resistente a quatro antimicrobianos (aztreonam, cefepime,cefatazidima e ceftriaxona), as outras bactérias foram identificadas presuntivamente como *Enterobacter* sp.

Além da avaliação de sensibilidade ou resistência, neste estudo foram determinados também o critério de resistência intermediária aos antimicrobianos entre as amostras isoladas e avaliadas. De maneira geral, por tipo de carne, os dados representativos dos níveis de sensibilidade, resistência intermediária ou resistência aos diferentes antimicrobianos avaliados são apresentados nas figuras 5,6,7 e 8. Entre os antimicrobianos avaliados, destacam-se em termos de resistência e resistência intermediária, respectivamente, as drogas amoxicilina+ácido clavulânico, ampicilina, cefazolina , cefoxitina, e amoxacilina+ácido clavulânico, ampicilina e cefazolina

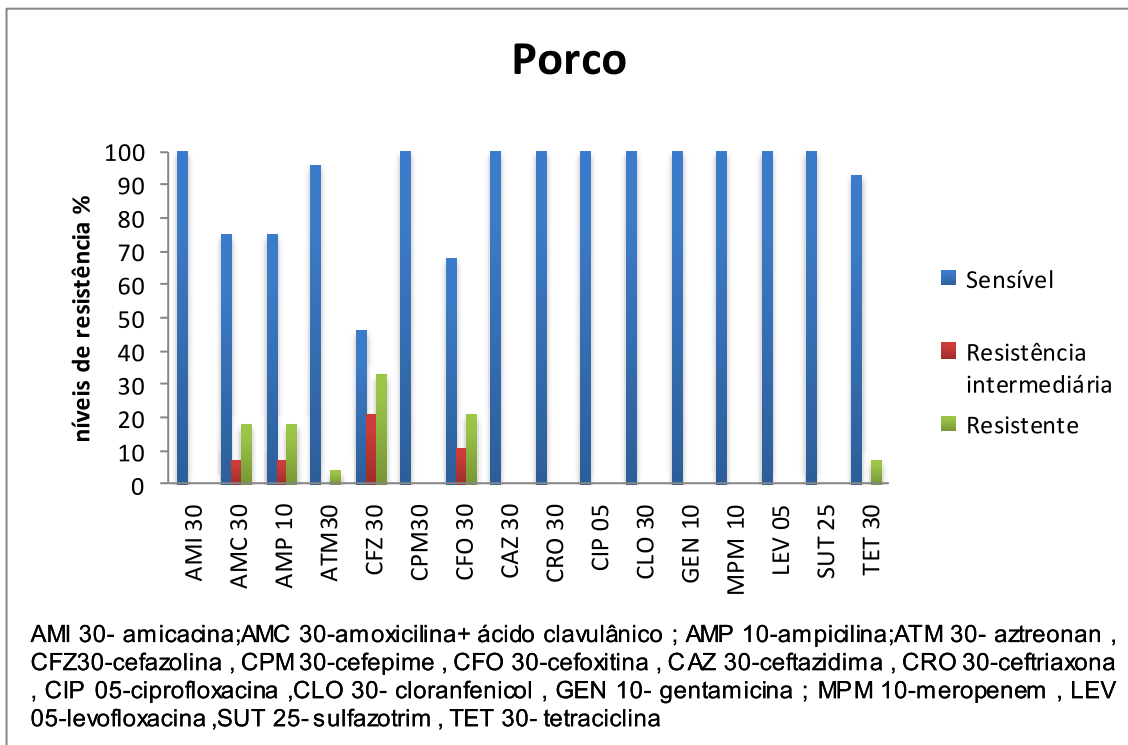




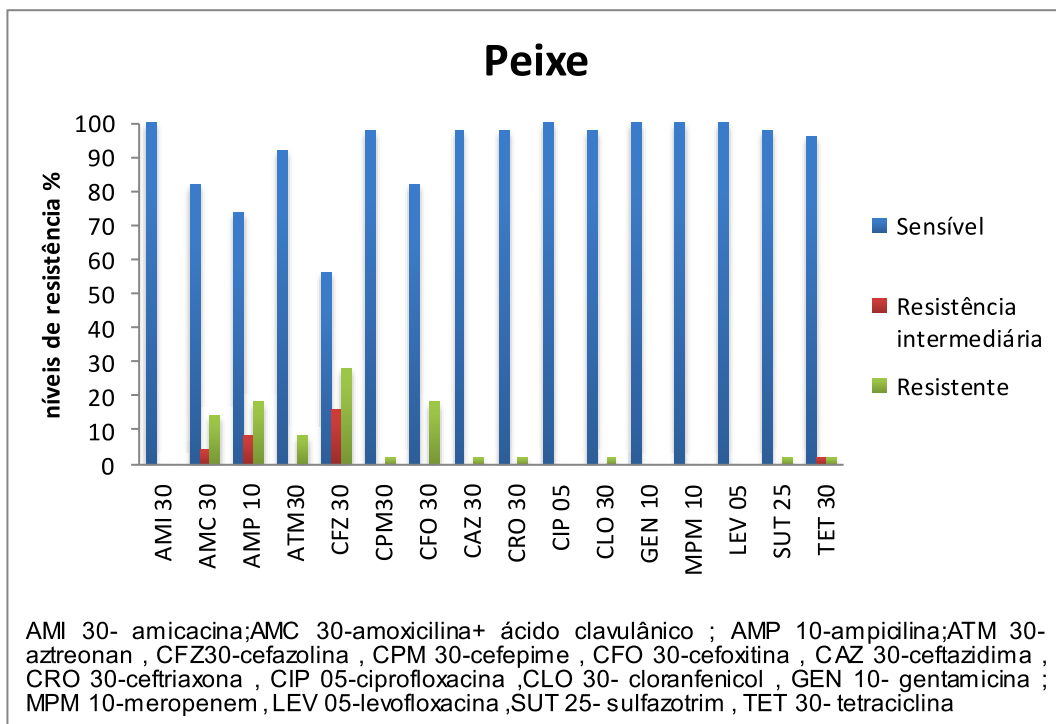
**Figura 6:** Níveis de resistência observados nos isolados bacterianos oriundos das amostras de carne de frango



**Figura 7:** Níveis de resistência observados nos isolados bacterianos oriundos das amostras de carne de boi



**Figura 8:** Níveis de resistência observados nos isolados bacterianos oriundos das amostras de porco



**Figura 9:** Níveis de resistência observados nos isolados bacterianos oriundos das amostras de peixe

Ao considerarem-se as diferentes classes e tipos de antimicrobianos avaliados, em geral pode-se observar que houve uma predominância de resistência para cefazolina

(33,57%), seguida de ampicilina (21,42%), cefoxitina (19,48%) e amoxicilina e ácido clavulânico (16,42%). A resistência foi verificada principalmente nas drogas das classes das penicilinas e cefalosporinas, que são drogas beta-lactâmicos, que possuem como mecanismo efetor interferir na síntese da parede celular, sendo as penicilinas a classe de antibióticos mais antigos no mercado. A predominância de resistência verificada para penicilinas e cefalosporinas de primeira e segunda geração se manteve igual para os isolados de todas as carnes.

A resistência às penicilinas pode ser dividida em produção de beta-lactamases, ausência ou alteração de PBPs, falta de ativação das enzimas autolíticas ou incapacidade de sintetizar peptidoglicano, como os micoplasmas. A resistência as cefalosporinas pode ser atribuída à penetração deficiente do fármaco nas bactérias, a ausência de PBP para um fármaco específico e degradação do fármaco por beta-lactamases (BROOKS et.al., 2014).

Pode-se observar, em menor proporção, resistência para ceftriaxona (0,71%) e ceftazidima (2,14%), cefalosporinas de terceira geração, e cefepime (0,71%), única cefalosporina de quarta geração destinada para o uso clínico. Algumas bactérias apresentaram resistência ao cloranfenicol (2,14%), que é um potente inibidor da síntese de proteínas. A resistência ao cloranfenicol pode ser decorrente da destruição do fármaco por uma enzima (cloranfenicol acetiltransferase) que é transferida por plasmídeos (SUARÉZ & GUDIOL, 2009; BROOKS et.al., 2014). Alguns microrganismos não demonstraram susceptibilidade ao sulfazotrim (3,57%) e a tetraciclina (6,42%). O sulfazotrim é a união de dois fármacos sulfametoxazol e trimetoprim, sendo que cada um desses fármacos bloqueia uma etapa no metabolismo do ácido fólico.

Todas as bactérias testadas em todas as amostras de carnes apresentaram sensibilidade a amicacina e a gentamicina, que são aminoglicosídeos. Apesar de todas as amostras apresentarem sensibilidade ao antibiótico amicacina, na literatura há relatos de microrganismo resistentes a esse antibiótico (KAUSHIK et.al., 2018). Porém, análogo ao resultado verificado no presente trabalho, Zhao e colaboradores (2012) e Mainali e colaboradores (2014), em sua pesquisas com diferentes tipos de carne, averiguaram que todos os microrganismos isolados das amostras proteicas apresentaram sensibilidade a amicacina (ZHAO et.al., 2012; MAINALI et.al., 2014). Os isolados bacterianos também demonstraram sensibilidade a ciprofloxacina e levofloxacina, que são quinolonas de segunda e terceira geração, respectivamente (WALSH, 2003; BROOKS et.al., 2014).

Analisando isoladamente cada tipo de carne, observou-se que a carne de porco e a carne de boi foram as que menos apresentaram bactérias resistentes, sendo resistentes a seis antibióticos em relação as bactérias isoladas das carnes de frango, que apresentaram resistência a nove antimicrobianos, e as da carne de peixe que apresentaram resistência a onze dos dezesseis antimicrobianos testados. Todas apresentaram resistência predominante as classes das penicilinas e cefalosporinas, ampicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, cefazolina e cefoxitina.

Das amostras de frango pode-se verificar que alguns isolados apresentaram resistência ao aztreonam (12,00%), a ceftazidima (cefalosporina de terceira geração), cloranfenicol, sulfazotrim (8,00%) e a tetraciclina (4,00%). Roldán e colaboradores (2018), em uma análise realizada com carne de frango vendida em supermercados, encontraram resistência em porcentagens bem superiores às apresentadas neste trabalho, onde verificou-se uma resistência para a tetraciclina de 94,6% e ao cloranfenicol de 82%. Em contrapartida no mesmo estudo foi verificado uma resistência amoxicilina/ácido clavulânico de 16,1 %, inferior a encontrada no presente trabalho, onde as bactérias oriundas da carne de frango apresentaram uma resistência de 20,00% (RONDÁN et.al., 2018).

A presença de isolados resistentes a ceftazidima, uma cefalosporina de terceira geração, demonstra um dado importante, já que essa droga é muito útil para o tratamento de bacteremia adquirida em ambiente hospitalar por microrganismos Gram-negativos. Em um estudo similar com carne de frango na Romênia não foi verificado resistência a ceftazidima (TIRZIU et.al., 2015). Resistência a cefalosporina de terceira geração é frequentemente verificada em estudos que analisam conteúdo intestinal dos animais e não a carne propriamente para consumo (BROOKS 2014; YASSIN, et.al., 2017).

Das enterobactérias oriundas da carne de boi, pode-se observar que elas apresentaram um maior percentual de resistência para os antimicrobianos tetraciclina (13,51 %) em relação as outras carnes, frango (4,00%), porco (7,14%) e peixe (2,00%), sendo este último o que apresentou a porcentagem mais baixa com menos isolados resistentes. O ministério da agricultura e pecuária proibiu o uso desse antimicrobiano como promotor de crescimento em animais (MAPA), porém, é um medicamento largamente utilizado na medicina veterinária para tratamento.

A carne de boi foi a única que não apresentou isolados resistentes ao aztreonam. Todos os outros isolados de frango, porco e peixe apresentaram resistência a esse antibiótico. O aztreonam é um fármaco monobactâmico, que é um medicamento utilizado

na medicina humana como uma alternativa aos aminoglicosídeos para o tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas, sendo utilizados em ITU's, infecções cutâneas, respiratórias, ginecológicas e septicemia (HELLINGER & BREWER, 1999).

A carne de porco foi a única que apresentou bactérias sensíveis ao antimicrobiano sulfazotrim, diferentes das outras amostras que apresentaram resistência a essa droga. A carne de peixe foi a única que apresentou bactérias resistentes a todas as cefalosporinas utilizadas no teste de susceptibilidade (cefazolina- primeira geração; cefoxitina-segunda geração; ceftriaxona-terceira geração e cefepime- quarta geração), sendo o antimicrobiano cefepime o único componente das cefalosporinas de quarta geração presente no mercado (BROOKS, 2014). A resistência a cefalosporina de quarta geração em carne de peixe já foi relatada por Zhang e colaboradores, que em uma análise de diferentes produtos de aquicultura, entre eles amostras de peixe, observou resistência de microrganismos a esta droga (ZHANG et.al., 2015).

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sem dúvida, o uso indiscriminado de antimicrobiano em animais, seja como medida profilática, tratando doenças ou como promotor de crescimento, acabou por gerar uma pressão seletiva nas bactérias, que acabaram adquirindo resistência a medicamentos de cunho clínico. Considerando que as amostras utilizadas neste estudo são carnes prontas para consumo, a presença de microrganismos resistentes ou que apresentaram multirresistência são dados alarmantes.

Pode-se sugerir que as carnes são reservatórios e potenciais meios de disseminação de microrganismos resistentes. Esses microrganismos eventualmente serão ingeridos pelo homem, podendo, através da alimentação, modificar a sua microbiota residente, transmitir marcadores de resistência, levando a infecções de difícil tratamento, e potencializando ainda mais o grave problema de resistência aos antimicrobianos.

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, pode observar que os alimentos, no caso, as carnes analisadas, apresentaram microrganismos potencialmente patogênicos, e revelou que esses microrganismos apresentam resistência a diversos antimicrobianos de diferentes classes, o que torna o alimento um vetor de microrganismos resistentes, contribuindo para a disseminação de resistência no meio.

## 7. CONCLUSÕES

- O que se observou nas amostras de carne foi uma grande quantidade de cocos Gram-positivos, exceto na carne de peixe. A presença de cocos pode indicar de contaminação pelas mãos dos manipuladores desses alimentos. A presença de bastonetes Gram-negativos se deu em menor quantidade, a prevalência destes bastonetes segundo as provas bioquímicos foi para bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae*.

- A distribuição dessas bactérias da família *Enterobacteriaceae* entre as amostras de carne ocorreu de maneira diversificada, porém a prevalência foi de *Enterobacter* sp.. A presença de bactérias como *E.coli* e *Klebsiella* sp. ocorreu em todas as amostras analisadas, em proporções variadas, onde frango e boi apresentarão uma maior concentração dessa bactéria. A presença presuntiva de *Salmonella* sp. um microrganismo que não deve ser encontrado nesse tipo de alimento se deu apenas em uma amostra de carne de porco.

- Esses microrganismos submetidos ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos apresentaram resistência principalmente as drogas das classes das cefalosporinas e das penicilinas. Essa resistência foi verificada em todas as carnes analisadas.

- A multirresistência ocorreu em alguns isolados, sendo que o isolado da carne de frango foi que o apresentou o maior índice (0,31), sendo resistente a cinco antibióticos diferentes, seguido dos isolados das outras carnes. A carne de peixe foi a que apresentou a maior quantidade de isolados multirresistente, 5 isolados, sendo também a única carne a apresentar resistência a todas as cefalosporinas testadas, demonstrando resistência, inclusive a cefepime.

## 8. REFERÊNCIAS

AARESTRUP FM, Wegener HC, Collignon P. Resistance in bacteria of the food chain: epidemiology and control strategies. **Expert Rev Anti Infect Ther** ; 6(5):p.733–50.2008

AARESTRUP F. Get pigs off antibiotics. **Nature** 486, 465–466 2012.

AARESTRUP, F. M. Antimicrobial Resistance in bacteria of animal origin. **ASM PRESS**. Washington D.C. 2006.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n.12 de 02 Janeiro de 2001. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>> . Acesso em 02 de abr. 2018.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n. 216 de 15 de setembro de 2004. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 05 de mai. 2018.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Detecção e identificação de Bactérias de importância médica. Módulo 5. 2004. Disponível em <[www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_5\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_5_2004.pdf)>.

ALCHIERI, M. S., GELINSKI, J.M.L.N., MINOTO, E. . Caracterização bioquímica de isolados bacterianos de solo de cultivo de videira. **Evidência**, Joaçaba, v. 16, n.2, p. 101-112, jul.-dez. 2016.

ALDELBERG, J. M., Microbiologia Médica. Porto Alegre: AMGH, 2014.

ALMEIDA, M.V.A., CANGUSSÚ, I.M., CARVALHO, A.L.S., BRITO, I.L.P., COSTA R.A.. Drug resistance, AmpC-Beta-Lactamase and extended-spectrum Beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from fish and shrimp. **Journal of São Paulo Institute of Tropical Medicine**. p. 59-70. 2017



AMOS GC, ZHANG L, HAWKEY PM, GAZE WH, WELLINGTON EM. Functional metagenomic analysis reveals rivers are a reservoir for diverse antibiotic resistance genes. **Vet Microbiol** ;171:p.41e447. 2014

ANDERSSON, D.I., HUGHES, D. Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. **Nature Reviews Microbiology**. p. 465-478. 2014

ANGELAKIS, E., Weight gain by gut microbiota manipulation in productive animals. **Microbial Pathogenesis**. p. 1-9. 2016.

ASCHBACHER, P. W.; Distribution and fate of growth-promoting drugs. In: HATHCOCK, J. N.; COON, J. (Ed.). **Nutrition and drugs interrelations**. New York: Academic Press, 1978.

APPELBAUN, C. PETER. 2012 and beyond: potential for the start of a second pre-antibiotic era? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 67, p. 2062-2068. 2012.

BAGER, F. MADSEN, M., CHRISTENSEN, J., AARESTRUP, F.M. Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. **Prev. Vet. Med.**, v. 31, p. 95-112, 1997.

BAQUERO, F., Negri, M. C., Morosini, M. I. & Blazquez, J. Antibiotic-selective environments. **Clin. Infect. Dis.** 27 (Suppl. 1), 5–11 (1998).

BRAZ. J. vet. **Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 45, n. 2, p. 116-121, 2008

BAPTISTA, M. G. F. M. Mecanismos de Re-sistência aos Antibióticos. 2013. 42f. monografia (Dissertação de Mestrado) - Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa).

BOUCHER HW, TALBOT GH, BRADLEY JS, . Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis** ; 48(1):p.1–12.2009

BOGAN C, MARCHAIM D. The role of antimicrobial stewardship in curbing carbapenem

resistance. **Future Microbiol** ;8(8):p.979–91. 2013

BONARDI, S. *Salmonella* in the pork production chain and its impact on human health in the European Union. **Epidemiol. Infect.**, p. 1-14. 2017

BOXALL AB, FOGG LA, BLACKWELLPA, KAY, P., PEMBERTON, E.J., CROXFORD, A.. Veterinary medicines in the environment. **Rev Environ Contam Toxicol** ;180:p.1–91.2004

BLAIR, J. M. WEBBER M.A., BAYLAYA. A.J., OGBOLU, D.O., PIDDOCK, L.J. . Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Nature**, v. 13, p. 42-51, 2015

BROOKS, G.F., CARROL, KC., BUTEL, J.S, MORSE, S.A., MIETZNER, T.A. ,  
Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg. Porto Alegre: AMGH, 2014.

CAÇO, Ana Isabel da Graça Barranqueiro. Influência do par iónico na partição de fluoroquinolonas. 2008. 88 f. Dissertação de Mestrado (Engenharia Química).  
Universidade de Aveiro, Aveiro, 2008

CASABURI, A.,PIOMBINO, P., NYCHAS, G.J., VILLANI, F., ERCOLINI, D. . Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. **Food Microbiology**. 45. p. 83-102. 2015

CANTON, R., MOROSINI, MI.. Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. **FEMS Microbiol. Rev.** p.977-991. 2011

CAMARGO,A.C., CASTILHO, N.P., SILVA, D.A., VALLIM, D.C., HOFER, E., NERO, L.A. Antibiotic Resistance of *Listeria monocytogenes* Isolated from Meat-Processing Environments, Beef Products, and Clinical Cases in Brazil. **MICROBIAL DRUG RESISTANCE**. Volume 00, Number 00, 2015

CAPITA R, Alonso-Calleja C. Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry. **Crit Rev Food Sci Nutr** ;53(1):p.11–48.2013

CARVALHO, M.C.N., JAYME, M.M. ARENAZIO, G.S., ARAUJO, F.V., LEITE, S.G.F., AGUILA, E.M.D. Microbiological Quality Assessment by PCR and Its Antibiotic Susceptibility in Mangrove Crabs *Ucides cordatus* from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **International Journal of Microbiology**. Volume 2016

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28<sup>th</sup> .2018

COOK, A., SMITH, R.J.R., IRWIN, R.J., MCEWEN, S.A., YOUNG ,V. , RIBBLE, C. . Antimicrobial Resistance in *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* Isolated from Retail Grain-Fed Veal Meat from Southern Ontario, Canada. **Journal of Food Protection**, Vol. 74, No. 8 P. 1245–1251, 2011.

D' COSTA V. M. KING, C.E., KALAN, L., MORAR, M., SUNG, W.W., SCHWARZ, C., FROESE, D., ZAZULA, G., GALMELS, F., DEBRUYNE, R., GOLDING, G.B., POINAR, H.N., WRIGHT, G.D. . Antibiotic resistance is ancient. **Nature** 477, 457–461 (2011)

DZIDIC, S.; SUSKOVIC, J.; KOS, B. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. **Food Tech-nology and Biotechnology**. v. 46, n. 11, p. 11-21, 2008

ELEY, A.R. Intoxicaciones alimentarias de etiologia microbiana. Zaragoza.: **Editorial Acribia**, 1994

FAIR, R. J.; TOR, Y. Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. **Perspectives in Medicinal Chemistry**, v. 6, p. 25–64, 2014

FALAGAS ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. **J Hosp Infect** ;73(4):p.345–54.2009

FRACALANZZA, S.A.P., SCHEIDEGGER, E.M.D., SANTOS, P.F., LEITE, P.C., TEIXEIRA, L.M. , Antimicrobial resistance profiles of enterococci isolated from poultry

meat and pasteurized milk in Rio de Janeiro, Brazil. Mem. **Inst. Oswaldo Cruz** vol.102 no.7 Rio de Janeiro Nov. 2007 Epub Aug 31, 2007

Food and Agriculture Organization of the UN. Food outlook. Rome: FAO; 2011;

GASTALHO, S. SILVA, G., RAMOS, F. . Uso de antibióticos em aquicultura e resistência bacteriana: Impacto em saúde pública. *Acta Farmacêutica Portuguesa*. v.3,n.1, 2014.

GÓMEZ, D.;AZON,E.; MARCO, N.;CARRAMIÑANA, J.J., ROTA,C., ARIÑO, A., YANQUELA, J., . Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat –processing environment. **Food Microbiol.** 2014

GUIMARÃES, D.O., MOMESSO, L.S., PUPO, M.T. ., Antibióticos: a importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quim. Nova**, v.33, n. 3., p. 667-679. 2010

GUSTAFSSON, I. SJOLUND, M., TORELL, E., JOHANNESSON M., ENGSTRAND, L., CARS, O., ANDERSON, D.I. . Bacteria with increased mutation frequency and antibiotic resistance are enriched in the commensal flora of patients with high antibiotic usage. **J. Antimicrob. Chemother.** 52, p.645–650. 2003

HANNAH, E.L., JOHNSON, J.R., ANGULO, F., HADDADIN, B., WILLIAMSON, J., SAMORE, MH. . Molecular analysis of antimicrobial-susceptible and -resistant *Escherichia coli* from retail meats and human stool and clinical specimens in a rural community setting. **Foodborne Pathog. Dis.** 6, 285-295. 2009

HAWKEY PM., Multidrug-resistant gram-negative bacteria: a product of globalization. **J Hosp Infect** ;89(4):p.241–7.2015

HAWKEY P, JONES A. The changing epidemiology of resistance. **J Antimicrob Chemother Suppl.** ;p.1:3–10.2009

HELLINGER, W.C., BREWER, N.S., Carbapenems and monobactam: imipenem, meropenem, and aztreonam. **Mayo Clinical Proceedings**, 74 (4);420-434, 1999.

HENDRIKSEN, R.S., VIERIRA, A.R., KARSMOSE, S., LO, FO, WONG,D.M., JENSEN, A.B., WEGENER, H.C., AARESTRUP, F.M. ., Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. **Foodborne Pathogens and Disease**. Vol. 8; p. 887-900. 2011.

HIRSCH R, TERNES T, HABERER K, KRATZ, K.L. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Sci Total Environ** ;225(1–2):p.109–18.1999

HORTON RA, Randall LP, SnaryEL, COCKREM, H., LOTZ, S., WEARING, H., DUNCAN, D., RABIE, A., MCLAREN, I., WATSON, E., LA RAGIONE, R.M., GOLDHAM, N.G.. Fecal carriage and shedding density of CTX-M extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli* in cattle, chickens, and pigs: implications for environmental contamination and food production. **Appl Environ Microbiol** ;77:p.3715-3719.2011

HWANG AY, Gums JG. The emergence and evolution of antimicrobial resistance: Impact on a global scale. **Bioorg Med Chem** ;24(24):p.6440–5.2016

JIANG HX, TANG D, LIU YH, ZHANG, X.H., ZENG, Z.L., XU, L., HAWKEY, P.M.Prevalence and characteristics of beta-lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* isolated from farmed fish in China. **J Antimicrob Chemother**;67:p.2350-2353.2012

LAMMIE, S. L.; HUGHES, J. M. Antimicrobial Resistance, Food Safety, and One Health: The Need For Convergence. **The Annual Review of Food Science and Technology**, v. 7, n. 13, p. 13.26, 2016.

LIVERMORE, D., Winstanley, T.G., Shannon, K.P., . Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. **J. Antimicrob. Chemother.** 48 (S1),p. 87e102.2001

LUND, B.M., ANTHONY, C., GOULD, GRAHAME, W., ; The Microbiological Safety and Quality of Food; **Aspen publisher Inc.**: New York, NY, USA. v.2.p.1399. 2000

KAUSHIK, P., ANJAY, KUMARI,S., DAYAL, S., KUMAR, S. Antimicrobial resistance and molecular characterization of E.coli from poultry in Eastern India. **Veterinaria Italiana.**, 54(3), p. 197-204. 2018

KUMAR, S., VARELA, M. F. Molecular Mechanisms of bacterial Resistance to antimicrobial Agents. Microbial Pathogens and strategies for Combating Them: **Science, technology and education, Formatex**, p. 522-534 2013.

KHAN, G. A., Berglund, B., Khan, K. M., Lindgren, P. E. & Fick, J. Occurrence and abundance of antibiotics and resistance genes in rivers, canal and near drug formulation facilities — a study in Pakistan. **PloS ONE**8, p.62712 (2013).

KILONZO-NTHENGE, A.; ROTICH, E.; NAHASHON, S. N. Evaluation of drug-resistant Enterobacteriaceae in retail poultry and beef. **Poultry Science**, v. 92, n. 4, p. 1098-1107, 2013.

KILONZO-NTHENGE, A.; ROTICH, E.; NAHASHON, S. N. Evaluation of drug-resistant Enterobacteriaceae in retail poultry and beef. **Poultry Science**, v. 92, n. 4, p. 1098-1107, 2013.

KOLPIN DW, FURLONG g ET, MEYER MT, THURMAN, E.M., ZAUGG, A.D., BARBER, L.B., BUXTON, H.T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: a national reconnaissance. **Environ Sci Technol** ;36(6):p.1202–11.2002

KONEMAN, E. W. E. Diagnóstico microbiológico. Rio de Janeiro **MEDSI**, v. 6 ed., 2006.

LIU,C., FENG, J., ZHANG, D., XIE, Y., LI, A., WANG, J., SU, Y. . Clustering Analysis of Antibigrams and Antibiogram Types of Streptococcus agalactiae Strains from Tilapia in China. **MICROBIAL DRUG RESISTANCE**. Volume 00, Number 00, 2018

LOVE DAVIS, M. F., BASSETT, A., GUNTHER, A. & NACHMAM K. E. Dose imprecision and resistance: free-choice medicated feeds in industrial food animal production in the United States. **Environ. Health Persp.** 119, 279–283 2011

MAGIORAKOS, A.P., SRINIVASAN, A., CAREY, R.B., CARMELI, Y., FALAGAS, M.E., GISKE, C.G., HARBARHT, S., HINDLER, J.F., KAHLMETER, G., OLSSON-LILJEQUIST, B., PATERSON, D.L., RICE, LB., STELLING, J., STRUELENS, M.J., VATAPOULOS, A., WEBER, J.T., MONNET, D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pan drug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, Volume 18 Number 3, March 2012.

MANTILLA, S.P.S., FRANCO, R.M., OLIVEIRA, L.A.T., SANTOS, E.B., GOUVÊA, R. Resistência antimicrobiana de bactérias do gênero *Listéria* spp. isoladas de carne moída bovina. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 45, n. 2, p. 116-121, 2008.

MAINALI, C., MCFALL, M., KING, R., IRWIN, R. Evaluation of antimicrobial resistance profiles of Salmonella isolates from broiler chickens at slaughter in Alberta, Canada. **Journal of Food Protection**. v.77.3. p. 485-492. 2014.

MONTELLI. A. C.; SADATSUNE, T. Antibioticoterapia para o clínico. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microbiologia, p. 7-53, 2001.

Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos

[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_integrado\\_vigilancia\\_doencas\\_alimentos.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf). Acesso em 13 de abril de 2018.

MARCHAIM D, PEREZ F., LEE J, BHEEMREDDY, S., HUJER, A.M., RUDIN, S., HAYAKAWA, K., LEPHART, P.R., BLUNDEN, C., SHANGO, M., CAMPBELL, M.L., VARKEY, J., MANICKAM, P., PATEL., D., POGUE, J.M., CHOPRA. T., MARTIN, E.T., DHAR, S., BONOMO, R.A., KAYE, K.S. “Swimming in resistance”: co-colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa*. **Am J Infect Control** ;40(9):p. 830–5.2012

MARSHALL, B. M. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. **American Society for Microbiology**. 2011.

MARSHALL BM, Levy SB. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. **Clin Microbiol Rev** ;24(4):718–33.2011

MENDONÇA,B.S., SILVA, C.S., SOUZA, L.M. Qualidade microbiológica de carne moída comercializada na cidade de Cariacica, ES. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 26, p. 101-105. 2012

MESSELE,Y.E., ABDI, R.D., YALEW, S.T., TEGEGNE, D.T., EMERU, B.A., WERID, G.M. Molecular determination of antimicrobial resistance in Escherichia coli isolate from raw meat in Addis Ababa and Bishoftu, Ethiopia. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**. 16-25. 2017

NYENJE, M.E. THANIH, N.F., GREEN, E., NDIP, R.N., .,Current status of Antibiograms of Listeria ivanovii and Enterobacter cloacea Isolated from Ready to eat foods in Alice , South Africa. **International journal Of Environmental Research and Public Health**. v. 9.p. 3101-3114. 2012.

OLIVEIRA, João Fernando P.; CIPULLO, José Paulo; BURDMANN, Emmanuel A. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 21, n. 4, p. 444-452, 2006

OLIVEIRA,M.M.M, BRUGNERA, D.F., MENDONÇA, A.T., PICCOLI, R.H. . Condições higiênico-sanitárias de maquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica de carne moída. **Ciência e Agrotecnologia**. V. 32, n. 6. P. 1893-1898, 2008

O'NEILL J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. Review on Antimicrobial Resistance. 2016.



ONEN, S.P.; ASLANTAS, O.; YILMAZ, E.S.; KUREKCI, C.. Prevalence of beta-lactamase producing *Escherichia coli* from retail meat in Turkey. **Journal of Food Science**. v. 80. n.9. 2015.

Organização das Nações Unidas para Alimentação e agricultura (FAO). Disponível em <[http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_brazil/en](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_brazil/en)>. Acesso 15 jan. 2018.

PADIYARA,P., INOUE, H., SPRENGER, M. . Global Governance Mechanisms to Address Antimicrobial Resistance. **Infectious Diseases: Research and Treatment**. Volume 11: 1–4. 2018

PADILHA, T. Resistência antimicrobiana x produção animal: uma discussão internacional. Artigos Embrapa, jun.2000

PARDI, M. C., . Ciência, higiene e tecnologia da carne. Goiânia: Editora UFG, . V.1, p. 585.. 1993

P.M. HAWKEY. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a product of globalization. **Journal of Hospital Infection** 89 p.241-247 .2015

PRESCOTT, J. F. Antimicrobial use in food and companion animals. **Anim. Health Res. Rev.** 9, 127–133 2008

RAMADAN,H., AWAD, A. et. al. Phenotypic and genetic characterization of B-lactam resistance in *Klebsiella* from retail chicken meat in Mansoura, Egypt. **Iranian Journal of Microbiology**. V.9 , n. 2. P. 74-81. 2017.

RAPINI, L.S., TEIXEIRA, J.P., MARTINS, N.E., CERQUEIRA, M.M.O.P., SOUZA, M.R., PENNA, C.F.A.M. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. Isoladas de queijo tipo coalho. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.56, n.1, p.130-133, 2004.

ROCA, I.; AKOVA, M.; BAQUERO, F.; CARLET, J.; CAVALERI, M.; COENEN, S.; COHEN, J.; FINDLAY, D.; GYSSENS, I.; HEURE, O.E.; KAHLMETER, G.; KRUSE, H.;

LAXMINARAYAN, R.; LIÉBANA, E.; LÓPEZ-CERERO, L.; MACGOWAN, A.; MARTINS, M.; RODRÍGUEZ-BAÑO, J.; ROLAIN, J.M.; SEGOVIA, C.; SIGAUQUE, B.; TACONELLI, E.; WELLINGTON, E.; VILA, J. The global threat of antimicrobial resistance: Science for intervention. **New Microbes and New Infections**, v. 6, p. 22–29, 2015.

RODRIGUES, D. P. R. Papel dos alimentos na veiculação da resistência antimicrobiana. In: XII ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS (ENAAL), Maceió-Alagoas. Anais. p. 33-34. 12. 2001

ROLDÁN, L.R., PUCHOL, S.M., GOMES, C., PALMA, N., RIVEROS, M., OCAMPO, K., DURAND, D., OCHOA, T.J., RUIZ, J., PONS, M.J. .,Presencia de Enterobacteriaceae y Escherichia coli multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. **Rev. Peru Med. Exp. Salud Publica.** , p. 425-432, 35; 2018

SANLIBABA, P., TEZEL, B.U., SENTURK, E. Antimicrobial Resistance of Enterococcus Species Isolated from Chicken in Turkey. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources** Vol. 38, No. 2, 2018.

SARTER,S., H.N.K. NGUYEN, L.T., HUNG,J.,LAZARD AND D. MONTET. Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. **Food Control.** 18. p. 1391-1396. 2007.

SARKIS, FLAVIA. Avaliação das condições Microbiológicas de carnes de animais silvestres no município de São Paulo. 2002. 84f. Dissertação ( Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba. São Paulo.

SCHWAIGER, K.,HUTHER, S., HOLZEL, C., KAMPF, P., BAUER, J. et.al. Prevalence of antibiotic-resistant enterobacteriaceae isolated from chicken and pork meat purchased at the slaughterhouse and at retail in Bavaria, Germany. **International Journal of Food Microbiology.** 154. p.2016-211. 2012

Secretaria de Comércio Exterior (SECEX)- Portal Siscomex. Disponível em <<http://www.mdic.gov.br/comercio-exteror/importacao/material-usado-similaridade/consulta-publica/>>. Acesso 10 jan. 2018.

SENA, M. J. Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus* sp. isolados de queijos coalho comercializados em Recife-PE. 2000. 75 p Tese (Doutorado) - Escola Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE). Aquicultura no Brasil. Série estudos mercadológicos. Sebrae, 2015.

SEYFRIED, E.E., R.J. NEWTON, K.F. RUBERT 4<sup>th</sup>, J.A. PEDERSON, AND K.D. MCMAHON. Occurrence of tetracycline resistance genes in aquaculture facilities with varying use of oxytetracycline. **Microb. Ecol.**59. p.799-807. 2010

SHARF, J.M., Carnes e produtos cárneos. In. Exame microbiológicos de alimentos. São Paulo : Editora Polígono, 1972. p. 145-156.

SILVA, R.O.S. GONÇALVES, G.G., LAZZARI, A.M., MULINARI, F. et.al., Prevalência de *Salmonella* spp.em suínos abatidos em um frigorífico do Distrito Federal determinada pela técnica de PCR. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas. v. 21, e. 2017104. 2017

SPINOSA, H.S., GORNIK, S.L., BERNARDI, M.M., et.al. Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária. Ed. Guanabara Koogan, 3a edição, Rio de Janeiro, 2002.

Sistema IBGE de Recuperação automática –SIDRA. Acesso 2018. <<https://sidra.ibge.gov.br/home/ipca/brasil>>

SOFOS, J. N.; GEORNARAS, I. Overview of current meat hygiene and safety risks and summary of recent studies on biofilms, and control of *Escherichia coli* O157:H7 in nonintact, and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, meat products. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 2-14, 2010.

SJOLUND, M.,TANO, E.,BLASER , M. J.,ANDERSSON , D. I. &ENGSTRAND, L. Persistence of resistant *Staphylococcusepidermidis* after single course of clarithromycin.Emerg.

**Infect. Dis.** 11, 1389–1393, 2005.

SJOLUND, M., WREIBER, K.,ANDERSSON , D. I.,BLASER , M. J.& ENGSTRAND , L. Long-term persistence of resistant *Enterococcus* species after antibiotics to eradicate *Helicobacter pylori*. **Ann. Intern. Med.** 139, 483–487, 2003.

SUARÉZ, C.,GUDIOL, F., *Enferm. Infecc. Microbiol.Clin.*,v.27, 166. 2009

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. Resistência Bacteriana a Droga. In: TRABULSI, L. R. *Microbiologia*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, cap.13, p. 86-89, 1989.

TACCONELLI E, CATALDO MA, DANCER SJ, DE ANGELIS, G., FALCONE, M., FRANK, U., KAHLMETER, G., PAN, A., PETROSILLO, N., RODRIGUES-BAÑO, J. SINGH, N., VENDITTI, M., YOKOE, D.S., COOKSON, B. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrugresistant gram-negative bacteria in hospitalized patients. **Clin Microbiol Infect**;20(Suppl 1):p.1–55.2014

TAL-JASPER, R., KATZ DE, AMRAMI N, RAVID, D., AVIVI, D., ZAIDENSTEIN, R., LAZAROVITCH, T., DADON, M., KAYE, K.S., MARCHAIM, D. Clinical and epidemiological significance of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* infections. **AntimicrobAgents Chemother** ;60(5):p.3127–31.2016

TEKINER, I.H.; OZPINAR H., Occurrence and characteristics extended spectrum beta-lactamases –producing *Enterobacteriaceae* from foods and animal origin. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 47. p. 444-451. 2016.

THAPALIYA, D., FORSHEY, B.M., KADARIYA, J., QUICK, MK, FARINA, S., O'BRIEN, A., NAIR, R., NWORIE, A., HANON, B., KATES, A., WARDYN, S., SMITH, T.C. , Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* in commercially available meat over a one year period in Iowa, USA. **Food Microbiology**, n.65, pg. 122-129., 2017.

TIRZIU, E., LAZAR, R., SALA, C., NICHITA, I., MORAR, A., SERES, M., IMRE, K., Salmonella in Raw Chicken Meat from Romanian Seaside: frequency of isolation and antibiotic Resistance. **Journal of Food Protection**. Vol. 78. N.5 p. 1003-1006. 2015

TYSON, G.H. NYIRABAHIZI, E., CRAREY, E., KABERA, C., LAM, C., RICE, T.C., MCDERMOTT, P.F., TATE, H. ., Prevalence and Antimicrobial Resistance of Enterococci Isolated from Retail Meat in United States, 2002 to 2014. **Applied and Environmental Microbiology**. V. 84., p. 1902-17. Jan. 2018.

United States Department of Agriculture (USDA). Disponível em; < <http://www.usdabrazil.org.br/pt-br/relatorios/>> . Acesso em 10 jan. 2018.

VAZQUEZ, A.V., RIVERA-VAZQUEZ, SANCHEZ, G., LIRA-MENDEZ, K., REYES-LOPEZ, M.A., BOCANEGRA-GARCIA, V. Prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes in Escherichia coli isolated from retail meats in Tamaulipas, México.. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**. 2018

WALLINGA , D. & BURCH, D. G. S. Does adding routine antibiotics to animal feed pose a serious risk to human health? *BMJ* 347, f4214, 2013.

WALSH, C. Antibiotics: actions, origins, resistance. AMS: Washington, 2003

WEGENER, H. C. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. *Current Opinion in Microbiology*. v. 6. p. 439-445, 2003.

WELLINGTON EM, BOXALL AB, CROSS P, FELI, E.J., GAZE, WH, HAWKEY, P.M., JOHNSON-ROLLINGS, A.S, JONES, D.L., LEE, N.M., OTTEN, W., THOMAS, C.M., WILLIAMS, A.P. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram negative bacteria. **Lancet Infect Dis** 13:p.155-165.2013

WILLERS, C., WENTZEL, J.F., PLESSIS, L.H., GOUWS, C., HAMMAN, J.H. Efflux as a mechanism of antimicrobial drugs resistance in clinical relevant microorganisms: the role of efflux inhibitors. **Journal Expert Opinion on Therapeutic Targets**. v.21.p.23-36. 2016.

WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. World Health Organization. 2014.

WU,Q.,XI, M., LV, X., XU, Y., FENG, Y., LI, Q., YANG, Q., XIA, X. et. al., Presence and antimicrobial susceptibility of Escherichia coli recovered from retail chicken in China **Journal of Food Protection**, Pag. 1773-1777. Vol. 77, No. 10. 2014.

YANG, Q. TIAN, T., NIU, T., WANG, P. . Molecular characterization of antibiotic resistance in cultivable multidrug-resistant bacteria from livestock manure. **Environmental Pollution**. P. 188-198, 2017.

YASSIN,A.K., GONG, J., KELLY,P., LU,G., GUARDABASSI, L., WEI,L., HAN, X., QIU, H., PRICE, S., CHENG, D., WANG, C. , Antimicrobial resistance in clinical Escherichia coli isolates from poultry and livestock, China. **Plos one**. September 21, 2017.

YU, T., JIANG, X., FU,K., LIU,B., XU, D., JI,S., ZHOU, L. , Detection of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants in Escherichia coli Isolates from Retail Meat in China. **Journal of Food Science**. Vol. 00, Nr. 0, 2015.

ZHANG, J. YANG,X., KUANG, D., SHI, X., XIAO, W., ZHANG, J., GU,Z., XU., X., MENG, J. Prevalence of antimicrobial resistance of non-typhoidal Salmonella serovars in retail aquaculture products. **International Journal of Food Microbiology**. v.210.p.47-52. 2015

ZHAO, S. BLICKENSTAFF, K. , BODEIS-JONES, S., GAINES. S.A., TONG, E., MCDERMOTT, P.F. Comparison of the prevalences and antimicrobial resistances of

Escherichia coli isolates from different Retail meats in the United States, 2002 to 2008.  
**Applied and environmental microbiology**. v. 78.n.6.. 2012

**9.APÊNDICE –A:** Tabela de identificação presuntiva dos isolados bacterianos

|     |         |                         |
|-----|---------|-------------------------|
| 1.  | C1FEM2  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 2.  | C1BEM4  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 3.  | C1BRAP  | <i>Serratia sp.</i>     |
| 4.  | C11FEM1 | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 5.  | C1SAS4  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 6.  | C1SRAP  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 7.  | C1PXEM2 | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 8.  | C2FEM2  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 9.  | C2FRAP  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 10. | C2BEM1  | <i>E.coli</i>           |
| 11. | C2BEM4  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 12. | C2BAS4  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 13. | C2SBE1  | <i>Serratia sp</i>      |
| 14. | C2PXEM2 | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 15. | C2PXRAP | <i>Citrobacter sp</i>   |
| 16. | C3FEM1  | <i>E. coli</i>          |
| 17. | C3FRAP  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 18. | C3BAS1  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 19. | C4FBE4  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 20. | C4FRAP  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 21. | C4BEM1  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 22. | C4BEM2  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 23. | C4BRAP  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 24. | C4SEM1  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 25. | C4SEM2  | <i>Citrobacter sp.</i>  |
| 26. | C4SEM3  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 27. | C4SRAP  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 28. | C5FRAP  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 29. | C5BEM4  | <i>Serratia sp</i>      |
| 30. | C11BEM2 | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 31. | C6FEM3  | <i>E.coli</i>           |
| 32. | C6SEM3  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 33. | C6SRAP  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 34. | C7FRAP  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 35. | C7BEM3  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 36. | C7BBE2  | <i>Serratia sp</i>      |
| 37. | C7BRAP  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 38. | C7SEM1  | <i>E.coli</i>           |
| 39. | C7SBE3  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 40. | C7SAS3  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 41. | C8FEM1  | <i>Enterobacter sp.</i> |



|             |                         |
|-------------|-------------------------|
| 42. C8BRAP  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 43. C8SEM1  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 44. C8SRAP  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 45. C9FEM4  | <i>Citrobacter sp</i>   |
| 46. C9BRAP  | <i>Citrobacter sp</i>   |
| 47. C9SRAP  | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 48. C10FEM1 | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 49. C10BRAP | <i>Enterobacter sp.</i> |
| 50. C10SEM3 | <i>Proteus sp.</i>      |
|             |                         |
| 51. C11FBE1 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 52. C12FAS1 | <i>Kebsiella sp</i>     |
| 53. C12BEM3 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 54. C13BEM2 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 55. C5FBE1  | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 56. C6BEM3  | <i>E.coli</i>           |
| 57. C7BEM1  | <i>E.coli</i>           |
| 58. C12FEM4 | <i>E.coli</i>           |
| 59. C10SEM4 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 60. C10SRAP | <i>Proteus sp</i>       |
| 61. C7SRAP  | <i>Proteus sp</i>       |
| 62. C7SBE4  | <i>Proteus sp</i>       |
| 63. C5FBE2  | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 64. C6FEM1  | <i>E.coli</i>           |
| 65. C4BBE4  | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 66. C1PXEM3 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 67. C12FAS4 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 68. C12FRAP | <i>Klebsiella sp.</i>   |
| 69. C12BEM1 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 70. C12BEM2 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 71. C12BBE1 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 72. C12BRAP | <i>E.coli</i>           |
| 73. C13BEM1 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 74. C13SEM2 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 75. C13SAS1 | <i>E.coli</i>           |
| 76. C14FRAP | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 77. C14BBE1 | <i>E.coli</i>           |
| 78. C14BRAP | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 79. C14BRAP | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 80. C15SEM3 | <i>Salmonella sp</i>    |
| 81. C15SBE3 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 82. C15SAS3 | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 83. C2BBE1  | <i>Klebsiella sp</i>    |
| 84. C4SEM4  | <i>Enterobacter sp</i>  |
| 85. C9BEM3  | <i>Enterobacter sp</i>  |

|      |            |                        |
|------|------------|------------------------|
| 86.  | C15PXEM1.1 | <i>Proteus sp</i>      |
| 87.  | C15PXEM3.2 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 88.  | C15PXAS1.2 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 89.  | C15PXEM1.2 | <i>Proteus sp</i>      |
| 90.  | C15PXEM1.3 | <i>Serratia sp</i>     |
| 91.  | C16PXEM1.2 | <i>Serratia sp</i>     |
| 92.  | C16PXEM2.1 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 93.  | C5PXEM1.1  | <i>Enterobacter sp</i> |
| 94.  | C5PXEM2.3  | <i>Enterobacter sp</i> |
| 95.  | C7PXRAP    | <i>Klebsiella sp</i>   |
| 96.  | C8PXEM1.1  | <i>E.coli</i>          |
| 97.  | C8PXEM1.2  | <i>E.coli</i>          |
| 98.  | C9PXEM1.1  | <i>Serratia sp</i>     |
| 99.  | C9PXEM1.2  | <i>Enterobacter sp</i> |
| 100. | C9PXEM1.3  | <i>Enterobacter sp</i> |
| 101. | C9PXEM2.1  | <i>Proteus sp</i>      |
| 102. | C9PXRAP    | <i>Enterobacter sp</i> |
| 103. | C10PXEM2.1 | <i>Serratia sp</i>     |
| 104. | C10PXEM3.1 | <i>E.coli</i>          |
| 105. | C10PXEM3.2 | <i>E.coli</i>          |
| 106. | C10PXAS1.2 | <i>Serratia sp</i>     |
| 107. | C10PXRAP   | <i>Serratia sp</i>     |
| 108. | C11PXEM2.1 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 109. | C11PXEM2.2 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 110. | C11PXBE2.1 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 111. | C11PXBE2.2 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 112. | C11PXBE2.3 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 113. | C11PXAS1.1 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 114. | C11PXAS1.3 | <i>Serratia sp</i>     |
| 115. | C11PXRAP   | <i>Serratia sp</i>     |
| 116. | C12PXEM1.1 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 117. | C12PXEM1.2 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 118. | C12PXEM1.3 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 119. | C12PXEM2.2 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 120. | C12PXEM2.3 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 121. | C12PXEM3.1 | <i>E.coli</i>          |
| 122. | C12PXRAP   | <i>Serratia sp</i>     |
| 123. | C13PXEM1.3 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 124. | C13PXEM2.2 | <i>Serratia sp</i>     |
| 125. | C13PXEM3.2 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 126. | C13PXEM3.3 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 127. | C14PXEM2.1 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 128. | C14PXRAP   | <i>Serratia sp</i>     |
| 129. | C16FEM1.3  | <i>Klebsiella sp</i>   |
| 130. | C16FEM4.3  | <i>Klebsiella sp</i>   |

|      |            |                        |
|------|------------|------------------------|
| 131. | C16BEM1    | <i>Serratia sp</i>     |
| 132. | C16BEM2.3  | <i>E.coli</i>          |
| 133. | C16BEM3.1  | <i>Enterobacter sp</i> |
| 134. | C16BEM3.2  | <i>Serratia sp</i>     |
| 135. | C16SEM3.2  | <i>Serratia sp</i>     |
| 136. | C16SEM3.3  | <i>E.coli</i>          |
| 137. | C16BEM1.3  | <i>Serratia sp</i>     |
| 138. | C16PXAS2.1 | <i>Serratia sp</i>     |
| 139. | C16PXAS3.3 | <i>Enterobacter sp</i> |
| 140. | C16PXRAP   | <i>Enterobacter sp</i> |

C-coleta; número da coleta; Carnes: F-frango, B- boi, S-suíno/porco, Px-peixe; meio de cultivo: EM- eosina azul de metileno; BE- bile esculina; M- manitol; AS- ágar sangue; RAP- caldo Rappaport.;

**APÊNDICE B:** Tabela das zonas de inibição para cada antimicrobiano

|                   | ANTIMICROBIANO( zona de inibição em mm) |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |
|-------------------|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Código do isolado | AMP<br>10                               | AMC<br>30 | AMI<br>30 | ATM<br>30 | CFZ<br>30 | CPM<br>30 | CFO<br>30 | CAZ<br>30 | CRO<br>30 | CIP<br>05 | CLO<br>30 | GEN<br>10 | MPM<br>10 | LEV<br>05 | SUT<br>25 | TET<br>30 |
| 1. C1FEM2         | 16                                      | 30        | 24        | 42        | 28        | 40        | 32        | 38        | 36        | 38        | 26        | 22        | 34        | 38        | 34        | 22        |
| 2. C1BEM4         | 17                                      | 12        | 20        | 32        | 11        | 30        | 22        | 25        | 30        | 28        | 23        | 20        | 30        | 28        | 28        | 22        |
| 3. C1BRAP         | 20                                      | 24        | 26        | 36        | 26        | 38        | 26        | 34        | 32        | 34        | 30        | 24        | 36        | 38        | 38        | 26        |
| 4. C11FEM1        | 22                                      | 26        | 20        | 32        | 24        | 34        | 20        | 28        | 28        | 30        | 22        | 20        | 30        | 32        | 30        | 20        |
| 5. C1SAS4         | 22                                      | 24        | 24        | 32        | 10        | 38        | 16        | 34*       | 36        | 36        | 32        | 22        | 38        | 34        | 34        | 28        |
| 6. C1SRAP         | 20                                      | 10        | 22        | 34        | 16        | 34        | 8         | 32        | 28        | 32        | 26        | 22        | 30        | 30        | 28        | 22        |
| 7. C1PXEM2        | 15                                      | 25        | 22        | 31        | 13        | 30        | 20        | 29        | 30        | 34        | 18        | 19        | 30        | 31        | 28        | 21        |
| 8. C2FEM2         | 14                                      | 30        | 24        | 42        | 28        | 40        | 30        | 34        | 32*       | 38        | 34        | 22        | 32        | 38        | 32        | 30        |
| 9. C2FRAP         | 14                                      | 22        | 22        | 34        | 24        | 34        | 26        | 30        | 28        | 28        | 28        | 20        | 30        | 30        | 28        | 24        |
| 10. C2BEM1        | 26                                      | 28        | 24        | 36        | 24        | 34        | 28        | 30        | 36        | 30        | 24        | 22        | 34        | 30        | 30        | 22        |
| 11. C2BEM4        | 12                                      | 28        | 22        | 34        | 26        | 36        | 28        | 30        | 30        | 30        | 30        | 20        | 30        | 30        | 28        | 0         |
| 12. C2BAS4        | 22                                      | 24        | 22        | 34        | 20        | 34        | 24        | 28        | 32        | 42        | 22        | 20        | 30        | 36        | 30        | 26*       |
| 13. C2SBE1        | 17                                      | 12        | 22        | 30        | 10        | 30        | 24        | 28        | 28        | 29        | 24        | 20        | 30        | 28        | 30        | 20        |
| 14. C2PXEM2       | 11                                      | 29        | 22        | 37        | 24        | 40        | 32        | 35        | 33        | 35        | 30*       | 21        | 38        | 35        | 34        | 26        |
| 15. C2PXRAP       | 0                                       | 0         | 24        | 36        | 0         | 37        | 0         | 31        | 31        | 29        | 26        | 23        | 35        | 30        | 30        | 14        |
| 16. C3FEM1        | 20                                      | 20        | 22        | 34        | 22        | 34        | 10        | 28        | 30        | 30        | 24        | 20        | 32        | 28        | 30        | 26        |
| 17. C3FRAP        | 18                                      | 8         | 20        | 32        | 8         | 34        | 10        | 30*       | 30        | 36        | 28        | 20        | 30        | 36        | 28        | 24        |
| 18. C3BAS1        | 21                                      | 25        | 22        | 36        | 20        | 35        | 22        | 30        | 29        | 23        | 26        | 22        | 34        | 23        | 32*       | 25        |
| 19. C4FBE4        | 16                                      | 8         | 22        | 36        | 16        | 36        | 10        | 32        | 34        | 28        | 28        | 22        | 34        | 30        | 30        | 24        |
| 20. C4FRAP        | 20                                      | 17        | 23        | 30        | 19        | 27        | 23        | 26        | 26        | 26        | 23        | 20        | 30        | 26        | 28        | 20        |
| 21. C4BEM1        | 15                                      | 20        | 24        | 32        | 20        | 33        | 22        | 28        | 30        | 30        | 26        | 22        | 32        | 30        | 30        | 20        |
| 22. C4BEM2        | 20                                      | 16        | 26        | 40        | 18        | 40        | 22        | 32        | 36        | 34        | 28        | 22        | 36        | 34        | 36        | 26        |
| 23. C4BRAP        | 15                                      | 38        | 25        | 34        | 26        | 34        | 26        | 30        | 34        | 31        | 29        | 24        | 34        | 32        | 34        | 26        |
| 24. C4SEM1        | 21                                      | 36        | 32        | 42        | 22        | 42        | 30        | 40        | 38        | 40        | 30        | 30        | 40        | 38        | 40        | 26        |
| 25. C4SEM2        | 22                                      | 16        | 25        | 0         | 20        | 34        | 17        | 26        | 34        | 32        | 28*       | 25        | 34        | 35        | 30        | 25        |
| 26. C4SEM3        | 21                                      | 16        | 22        | 34        | 20        | 35        | 18        | 30        | 31        | 28        | 27        | 21        | 32        | 26        | 31        | 24        |
| 27. C4SRAP        | 13                                      | 26        | 21        | 34        | 26        | 35        | 24        | 28        | 34        | 32        | 26        | 23        | 32        | 31        | 31        | 26        |
| 28. C5FRAP        | 23                                      | 21        | 27        | 38        | 14        | 40        | 10        | 33*       | 35        | 30        | 31        | 22        | 40        | 31        | 36        | 30        |
| 29. C5BEM4        | 10                                      | 11        | 25        | 35        | 11        | 39        | 24        | 34        | 31        | 34        | 26        | 25        | 36        | 35        | 35        | 26        |

|             |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |     |    |    |    |     |     |
|-------------|----|----|----|-----|----|----|----|----|-----|----|-----|----|----|----|-----|-----|
| 30. C11BEM2 | 11 | 26 | 22 | 35  | 28 | 34 | 27 | 32 | 30  | 29 | 28  | 22 | 32 | 29 | 30  | 26  |
| 31. C6FEM3  | 24 | 26 | 22 | 34  | 25 | 34 | 26 | 30 | 34  | 32 | 22  | 22 | 34 | 30 | 32  | 24  |
| 32. C6SEM3  | 27 | 34 | 30 | 40  | 28 | 40 | 30 | 32 | 36  | 40 | 25  | 27 | 40 | 38 | 35  | 27  |
| 33. C6SRAP  | 34 | 35 | 30 | 50  | 30 | 40 | 30 | 40 | 40  | 40 | 30  | 26 | 40 | 40 | 35  | 34  |
| 34. C7FRAP  | 20 | 26 | 23 | 10  | 23 | 30 | 25 | 28 | 31  | 28 | 24  | 22 | 30 | 31 | 30  | 23  |
| 35. C7BEM3  | 21 | 26 | 24 | 32  | 22 | 33 | 21 | 24 | 22  | 35 | 23  | 23 | 33 | 34 | 31  | 23* |
| 36. C7BBE2  | 10 | 24 | 22 | 32  | 26 | 34 | 27 | 30 | 30  | 26 | 26* | 20 | 30 | 30 | 28  | 23  |
| 37. C7BRAP  | 0  | 0  | 21 | 35  | 0  | 32 | 0  | 26 | 29* | 30 | 25  | 19 | 32 | 34 | 30  | 20  |
| 38. C7SEM1  | 24 | 21 | 28 | 35  | 25 | 42 | 24 | 35 | 32  | 38 | 32  | 26 | 40 | 34 | 35* | 30  |
| 39. C7SBE3  | 15 | 27 | 24 | 40  | 23 | 35 | 29 | 30 | 35  | 40 | 30  | 23 | 30 | 35 | 30  | 27  |
| 40. C7SAS3  | 24 | 23 | 24 | 34  | 22 | 37 | 25 | 30 | 30  | 35 | 27  | 21 | 37 | 33 | 33  | 25  |
| 41. C8FEM1  | 21 | 22 | 24 | 35  | 23 | 36 | 23 | 30 | 28  | 34 | 30  | 20 | 35 | 34 | 33  | 23  |
| 42. C8BRAP  | 17 | 23 | 27 | 36  | 17 | 36 | 10 | 30 | 30  | 32 | 27  | 19 | 35 | 31 | 26  | 23  |
| 43. C8SEM1  | 15 | 0  | 23 | 35. | 0  | 30 | 10 | 29 | 30* | 32 | 28* | 20 | 32 | 34 | 30  | 23* |
| 44. C8SRAP  | 12 | 22 | 23 | 34  | 25 | 35 | 24 | 30 | 32  | 33 | 28  | 25 | 31 | 30 | 34  | 9   |
| 45. C9FEM4  | 0  | 18 | 21 | 31  | 20 | 32 | 29 | 23 | 30  | 22 | 9   | 18 | 31 | 21 | 0   | 19* |
| 46. C9BRAP  | 23 | 18 | 24 | 43  | 21 | 42 | 16 | 37 | 40  | 23 | 30  | 24 | 41 | 25 | 39  | 31  |
| 47. C9SRAP  | 0  | 22 | 19 | 29  | 22 | 30 | 23 | 26 | 25  | 25 | 25* | 16 | 27 | 23 | 22  | 19  |
| 48. C10FEM1 | 0  | 21 | 22 | 31  | 23 | 31 | 23 | 22 | 28  | 27 | 25  | 17 | 27 | 27 | 22  | 20  |
| 49. C10BRAP | 0  | 0  | 18 | 30  | 0  | 29 | 0  | 25 | 28  | 30 | 24* | 17 | 28 | 29 | 25  | 11  |
| 50. C10SEM3 | 21 | 18 | 21 | 34  | 17 | 32 | 14 | 34 | 33  | 33 | 29  | 20 | 35 | 32 | 31  | 25  |
|             |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |     |    |    |    |     |     |
| 51. C11FBE1 | 0  | 23 | 22 | 34  | 0  | 35 | 23 | 30 | 29  | 28 | 25  | 22 | 30 | 31 | 30  | 23  |
| 52. C12FAS1 | 16 | 11 | 25 | 0   | 0  | 36 | 26 | 17 | 23* | 34 | 30  | 27 | 35 | 31 | 26  | 0   |
| 53. C12BEM3 | 23 | 28 | 30 | 40  | 0  | 35 | 30 | 32 | 35  | 37 | 30  | 25 | 30 | 35 | 35  | 30  |
| 54. C13BEM2 | 25 | 28 | 32 | 40  | 0  | 35 | 30 | 35 | 35  | 34 | 25  | 30 | 35 | 40 | 35  | 26  |
| 55. C5FBE1  | 28 | 30 | 29 | 40  | 27 | 35 | 30 | 34 | 33  | 35 | 30  | 30 | 39 | 30 | 35  | 30  |
| 56. C6BEM3  | 25 | 30 | 24 | 35  | 27 | 38 | 30 | 32 | 35  | 34 | 27  | 22 | 33 | 36 | 34  | 25  |
| 57. C7BEM1  | 0  | 0  | 21 | 33  | 0  | 36 | 25 | 25 | 28  | 35 | 27  | 25 | 35 | 40 | 30  | 24  |
| 58. C12FEM4 | 20 | 22 | 17 | 32  | 21 | 32 | 26 | 28 | 30  | 33 | 23  | 21 | 31 | 32 | 29  | 21  |
| 59. C10SEM4 | 0  | 23 | 21 | 34  | 24 | 35 | 25 | 29 | 30  | 28 | 25  | 21 | 30 | 30 | 31  | 23  |
| 60. C10SRAP | 20 | 10 | 23 | 35  | 17 | 37 | 9  | 30 | 32  | 34 | 25  | 23 | 32 | 30 | 31  | 25  |
| 61. C7SRAP  | 25 | 25 | 26 | 40  | 26 | 40 | 25 | 32 | 34  | 30 | 30  | 25 | 40 | 35 | 36  | 30  |
| 62. C7SBE4  | 22 | 23 | 25 | 35  | 20 | 37 | 17 | 33 | 30  | 30 | 28  | 24 | 35 | 33 | 32  | 26  |

|                |    |    |    |    |    |    |     |    |     |    |    |    |    |    |     |     |
|----------------|----|----|----|----|----|----|-----|----|-----|----|----|----|----|----|-----|-----|
| 63. C5FBE2     | 25 | 27 | 30 | 35 | 25 | 40 | 28  | 30 | 30  | 35 | 29 | 27 | 35 | 33 | 35  | 28  |
| 64. C6FEM1     | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30  | 30 | 30  | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30  | 30  |
| 65. C4BBE4     | 20 | 19 | 25 | 37 | 19 | 35 | 0   | 30 | 31  | 32 | 30 | 25 | 35 | 35 | 33  | 28  |
| 66. C1PXEM3    | 30 | 30 | 32 | 30 | 30 | 30 | 30  | 30 | 30  | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30  | 30  |
| 67. C12FAS4    | 0  | 0  | 25 | 0  | 0  | 30 | 20* | 16 | 24* | 26 | 27 | 25 | 33 | 28 | 30  | 23* |
| 68. C12FRAP    | 0  | 0  | 24 | 34 | 0  | 30 | 0   | 30 | 32  | 36 | 26 | 21 | 35 | 34 | 31  | 25  |
| 69. C12BEM1    | 21 | 25 | 20 | 30 | 23 | 30 | 28  | 28 | 30  | 29 | 25 | 20 | 30 | 30 | 31  | 22  |
| 70. C12BEM2    | 20 | 27 | 25 | 33 | 25 | 30 | 26  | 30 | 30  | 30 | 25 | 24 | 30 | 30 | 30  | 25  |
| 71. C12BBE1    | 0  | 0  | 25 | 40 | 0  | 40 | 0   | 30 | 35  | 30 | 20 | 25 | 35 | 35 | 35  | 27  |
| 72. C12BRAP    | 25 | 30 | 28 | 36 | 30 | 36 | 30  | 35 | 33  | 30 | 25 | 26 | 35 | 35 | 35  | 30  |
| 73. C13BEM1    | 20 | 25 | 30 | 40 | 0  | 37 | 25  | 35 | 35  | 35 | 35 | 28 | 35 | 40 | 40  | 30  |
| 74. C13SEM2    | 26 | 30 | 25 | 35 | 11 | 36 | 29  | 27 | 30  | 29 | 20 | 21 | 37 | 31 | 34  | 29  |
| 75. C13SAS1    | 28 | 30 | 26 | 33 | 0  | 35 | 32  | 30 | 30  | 25 | 19 | 25 | 30 | 30 | 30  | 26  |
| 76. C14FRAP    | 0  | 0  | 25 | 35 | 0  | 35 | 10  | 32 | 30  | 35 | 23 | 24 | 35 | 35 | 35  | 27  |
| 77. C14BBE1    | 25 | 30 | 27 | 38 | 20 | 40 | 30  | 35 | 38  | 38 | 35 | 30 | 40 | 35 | 35  | 25  |
| 78. C14BRAP    | 11 | 29 | 23 | 36 | 24 | 30 | 28  | 30 | 31  | 32 | 30 | 21 | 30 | 30 | 24  | 25  |
| 79. C14BRAP    | 22 | 24 | 25 | 33 | 25 | 34 | 27  | 30 | 31  | 27 | 25 | 23 | 32 | 27 | 24  | 0   |
| 80. C15SEM3    | 30 | 30 | 25 | 40 | 30 | 35 | 25  | 35 | 35  | 35 | 25 | 25 | 30 | 40 | 37  | 11  |
| 81. C15SBE3    | 30 | 30 | 30 | 40 | 30 | 36 | 30  | 33 | 32  | 40 | 26 | 26 | 34 | 35 | 35  | 30  |
| 82. C15SAS3    | 0  | 0  | 20 | 34 | 0  | 35 | 0   | 25 | 28  | 25 | 27 | 24 | 32 | 26 | 25  | 17  |
| 83. C2BBE1     | 15 | 30 | 25 | 35 | 25 | 35 | 30  | 31 | 30  | 30 | 25 | 25 | 32 | 30 | 33  | 25  |
| 84. C4SEM4     | 23 | 25 | 30 | 35 | 24 | 30 | 13* | 30 | 30  | 33 | 25 | 26 | 37 | 30 | 40  | 30  |
| 85. C9BEM3     | 30 | 34 | 30 | 40 | 30 | 38 | 30  | 38 | 30  | 40 | 30 | 30 | 40 | 40 | 38  | 28  |
| 86. C15PXEM1.1 | 20 | 17 | 28 | 35 | 20 | 35 | 13  | 25 | 30  | 30 | 34 | 30 | 35 | 34 | 37  | 30  |
| 87. C15PXEM3.2 | 30 | 33 | 27 | 40 | 28 | 35 | 24  | 30 | 33  | 35 | 27 | 23 | 35 | 35 | 35  | 26  |
| 88. C15PXAS1.2 | 0  | 28 | 25 | 35 | 25 | 35 | 25  | 30 | 30  | 37 | 30 | 25 | 33 | 34 | 33  | 25  |
| 89. C15PXEM1.2 | 19 | 18 | 23 | 38 | 20 | 35 | 13* | 30 | 30  | 35 | 30 | 30 | 33 | 35 | 34  | 27  |
| 90. C15PXEM1.3 | 19 | 20 | 24 | 34 | 20 | 35 | 20  | 30 | 30  | 32 | 27 | 25 | 35 | 33 | 32  | 25  |
| 91. C16PXEM1.2 | 20 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40  | 40 | 40  | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40  | 40  |
| 92. C16PXEM2.1 | 0  | 9  | 30 | 33 | 0  | 40 | 10* | 30 | 32  | 33 | 21 | 25 | 40 | 35 | 30  | 30  |
| 93. C5PXEM1.1  | 0  | 0  | 26 | 40 | 0  | 38 | 10  | 33 | 30  | 34 | 25 | 25 | 35 | 35 | 32  | 22  |
| 94. C5PXEM2.3  | 23 | 22 | 30 | 40 | 0  | 38 | 25  | 35 | 33  | 35 | 25 | 30 | 35 | 36 | 35  | 24  |
| 95. C7PXRAP    | 0  | 0  | 25 | 33 | 0  | 35 | 24  | 30 | 30  | 32 | 25 | 23 | 33 | 30 | 31* | 24  |
| 96. C8PXEM1.1  | 25 | 27 | 30 | 38 | 27 | 38 | 30  | 30 | 35  | 35 | 35 | 27 | 35 | 40 | 40  | 33  |

|                 |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |     |
|-----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|-----|
| 97. C8PXEM1.2   | 30 | 28 | 26 | 35 | 22 | 37 | 34 | 25 | 30  | 34 | 32 | 25 | 35 | 35 | 37 | 28  |
| 98. C9PXEM1.1   | 25 | 26 | 25 | 35 | 25 | 35 | 20 | 30 | 32  | 38 | 25 | 24 | 33 | 35 | 32 | 27  |
| 99. C9PXEM1.2   | 24 | 27 | 25 | 35 | 26 | 35 | 20 | 30 | 30  | 31 | 21 | 23 | 34 | 35 | 30 | 25  |
| 100. C9PXEM1.3  | 26 | 28 | 25 | 37 | 30 | 38 | 28 | 34 | 35  | 35 | 23 | 25 | 35 | 32 | 35 | 30  |
| 101. C9PXEM2.1  | 20 | 30 | 30 | 0  | 28 | 25 | 19 | 25 | 30  | 30 | 0  | 30 | 35 | 30 | 30 | 33  |
| 102. C9PXRAP    | 15 | 24 | 25 | 35 | 25 | 35 | 25 | 30 | 32  | 30 | 25 | 23 | 31 | 30 | 30 | 23  |
| 103. C10PXEM2.1 | 33 | 35 | 30 | 40 | 30 | 35 | 30 | 33 | 30  | 40 | 30 | 30 | 35 | 35 | 35 | 17  |
| 104. C10PXEM3.1 | 30 | 28 | 30 | 40 | 30 | 40 | 27 | 35 | 35  | 35 | 30 | 30 | 35 | 33 | 35 | 30  |
| 105. C10PXEM3.2 | 30 | 30 | 30 | 40 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30  | 30 | 30 | 30 | 40 | 30 | 30 | 30  |
| 106. C10PXAS1.2 | 20 | 30 | 30 | 15 | 26 | 28 | 23 | 25 | 30  | 30 | 26 | 25 | 35 | 27 | 28 | 19  |
| 107. C10PXRAP   | 0  | 30 | 25 | 35 | 25 | 40 | 25 | 35 | 35  | 35 | 30 | 25 | 35 | 40 | 33 | 27  |
| 108. C11PXEM2.1 | 25 | 27 | 25 | 35 | 30 | 35 | 25 | 35 | 30  | 35 | 25 | 25 | 35 | 40 | 33 | 30  |
| 109. C11PXEM2.2 | 15 | 0  | 25 | 37 | 0  | 40 | 0  | 33 | 32  | 34 | 25 | 27 | 35 | 35 | 33 | 23  |
| 110. C11PXBE2.1 | 20 | 25 | 30 | 40 | 25 | 38 | 20 | 30 | 33  | 38 | 22 | 25 | 35 | 37 | 33 | 30  |
| 111. C11PXBE2.2 | 24 | 30 | 28 | 40 | 30 | 40 | 21 | 34 | 35  | 40 | 30 | 30 | 35 | 37 | 35 | 32  |
| 112. C11PXBE2.3 | 20 | 30 | 23 | 40 | 30 | 40 | 25 | 30 | 33  | 37 | 25 | 25 | 40 | 40 | 35 | 32  |
| 113. C11PXAS1.1 | 26 | 30 | 25 | 40 | 27 | 40 | 22 | 30 | 30  | 35 | 21 | 25 | 35 | 35 | 30 | 25  |
| 114. C11PXAS1.3 | 23 | 25 | 27 | 35 | 25 | 36 | 20 | 32 | 34  | 35 | 25 | 24 | 35 | 37 | 32 | 30  |
| 115. C11PXRAP   | 17 | 30 | 20 | 40 | 25 | 30 | 21 | 30 | 35  | 32 | 26 | 20 | 35 | 35 | 30 | 27  |
| 116. C12PXEM1.1 | 24 | 30 | 23 | 40 | 20 | 35 | 23 | 30 | 27* | 35 | 30 | 28 | 40 | 35 | 40 | 33  |
| 117. C12PXEM1.2 | 25 | 27 | 25 | 35 | 25 | 35 | 30 | 30 | 30  | 35 | 30 | 21 | 35 | 35 | 36 | 32  |
| 118. C12PXEM1.3 | 15 | 15 | 20 | 0  | 10 | 30 | 0  | 25 | 30  | 25 | 25 | 20 | 30 | 25 | 30 | 25  |
| 119. C12PXEM2.2 | 0  | 20 | 19 | 30 | 20 | 30 | 25 | 30 | 30  | 28 | 24 | 20 | 30 | 27 | 26 | 23  |
| 120. C12PXEM2.3 | 30 | 30 | 30 | 40 | 17 | 35 | 27 | 34 | 32  | 40 | 28 | 30 | 35 | 37 | 35 | 27  |
| 121. C12PXEM3.1 | 26 | 28 | 25 | 38 | 23 | 32 | 26 | 30 | 32  | 33 | 27 | 24 | 30 | 33 | 30 | 25  |
| 122. C12PXRAP   | 17 | 13 | 22 | 34 | 18 | 35 | 0  | 30 | 30  | 30 | 24 | 25 | 35 | 30 | 33 | 25  |
| 123. C13PXEM1.3 | 27 | 29 | 30 | 40 | 30 | 40 | 25 | 40 | 40  | 40 | 34 | 30 | 33 | 40 | 35 | 35  |
| 124. C13PXEM2.2 | 0  | 0  | 25 | 35 | 0  | 35 | 0  | 30 | 30  | 33 | 30 | 24 | 35 | 30 | 35 | 22  |
| 125. C13PXEM3.2 | 0  | 18 | 23 | 35 | 20 | 34 | 25 | 30 | 32  | 34 | 21 | 24 | 30 | 31 | 0  | 0   |
| 126. C13PXEM3.3 | 25 | 30 | 22 | 37 | 25 | 33 | 24 | 32 | 33  | 32 | 28 | 20 | 40 | 30 | 30 | 25  |
| 127. C14PXEM2.1 | 28 | 30 | 27 | 40 | 19 | 40 | 25 | 32 | 30  | 34 | 30 | 30 | 35 | 35 | 35 | 23  |
| 128. C14PXRAP   | 21 | 21 | 23 | 35 | 15 | 35 | 20 | 30 | 30  | 35 | 25 | 23 | 33 | 30 | 31 | 25  |
| 129. C16FEM1.3  | 15 | 30 | 20 | 35 | 25 | 37 | 30 | 30 | 30  | 37 | 31 | 23 | 34 | 35 | 0  | 30* |
| 130. C16FEM4.3  | 15 | 25 | 27 | 25 | 0  | 27 | 10 | 24 | 25  | 30 | 0  | 23 | 30 | 34 | 25 | 25  |



|             |                   |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|-------------|-------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>131.</b> | <b>C16BEM1</b>    | 14         | 30         | 25         | 35         | 27         | 38         | 30         | 30         | 35         | 32         | 30         | 24         | 35         | 30         | 33         | 30         |
| <b>132.</b> | <b>C16BEM2.3</b>  | 22         | 25         | 25         | 35         | 25         | 40         | 28         | 38         | 35         | 25         | 32         | 25         | 35         | 24         | 0          | 0          |
| <b>133.</b> | <b>C16BEM3.1</b>  | 20         | 22         | 25         | 35         | 0          | 35         | 25         | 33         | 34         | 35         | 25         | 20         | 35         | 35         | 32         | 26         |
| <b>134.</b> | <b>C16BEM3.2</b>  | 23         | 25         | 22         | 35         | 0          | 35         | 23         | 30         | 30         | 25         | 20         | 21         | 30         | 24         | 0          | 0          |
| <b>135.</b> | <b>C16SEM3.2</b>  | 21         | 25         | 20         | 32         | 24         | 30         | 30         | 30         | 30         | 33         | 23         | 20         | 34         | 35         | 32         | 25         |
| <b>136.</b> | <b>C16SEM3.3</b>  | 20         | 30         | 20         | 40         | 40         | 40         | 40         | 40         | 40         | 40         | 40         | 40         | 40         | 40         | 40         | 40         |
| <b>137.</b> | <b>C16BEM1.3</b>  | 10         | 25         | 21         | 30         | 25         | 34         | 25         | 30         | 30         | 32         | 28         | 20         | 35         | 30         | 30         | 25         |
| <b>138.</b> | <b>C16PXAS2.1</b> | 38         | 40         | 30         | 0          | 30         | 0          | 15         | 0          | 0          | 25         | 40         | 30         | 40         | 30         | 35         | 17         |
| <b>139.</b> | <b>C16PXAS3.3</b> | 20         | 25         | 25         | 35         | 20         | 40         | 20         | 30         | 30         | 33         | 30         | 25         | 35         | 35         | 35         | 27         |
| <b>140.</b> | <b>C16PXRAP</b>   | 21         | 22         | 25         | 35         | 19         | 35         | 25         | 30         | 30         | 30         | 30         | 24         | 30         | 35         | 35         | 30         |
|             |                   | <b>AMP</b> | <b>AMC</b> | <b>AMI</b> | <b>ATM</b> | <b>CFZ</b> | <b>CPM</b> | <b>CFO</b> | <b>CAZ</b> | <b>CRO</b> | <b>CIP</b> | <b>CLO</b> | <b>GEN</b> | <b>MPM</b> | <b>LEV</b> | <b>SUT</b> | <b>TET</b> |
|             |                   | <b>10</b>  | <b>30</b>  | <b>30</b>  | <b>30</b>  | <b>30</b>  | <b>30</b>  | <b>30</b>  | <b>30</b>  | <b>30</b>  | <b>05</b>  | <b>30</b>  | <b>10</b>  | <b>10</b>  | <b>05</b>  | <b>25</b>  | <b>30</b>  |

C-coleta; número da coleta; Carnes: F-frango,B- boi, S-suíno/porco, Px-peixe; meio de cultivo: EM- eosina azul de metileno; BE- bile esculina; M- manitol; AS- ágar sangue; RAP- caldo Rappaport.;

## ANEXO A: Zone Diameter interpretive standards and equivalent Minimal Inhibitory Concentration Breakpoints (MIC) for *Enterobacteriaceae*

Table 2A-1. (Continued)

| Test/Report Group   | Antimicrobial Agent     | Disk Content | Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm) |     |       |      | MIC Interpretive Criteria (µg/mL) |     |           |        | Comments   |
|---|-------------------------|--------------|--|-----|-------|------|-----------------------------------|-----|-----------|--------|--|
|   |                         |              | S  | SDD | I     | R    | S                                 | SDD | I         | R      |  |
| <b>PENICILLINS</b>  |                         |              |  |     |       |      |                                   |     |           |        |  |
| A   | Ampicillin              | 10 µg        | ≥17  | –   | 14–16 | ≤13  | ≤8                                | –   | 16        | ≥32    | (4) Results of ampicillin testing can be used to predict results for amoxicillin. See comment (2).   |
| O   | Piperacillin            | 100 µg       | ≥21  | –   | 18–20 | ≤17  | ≤16                               | –   | 32–64     | ≥128   | (5) For testing and reporting of <i>E. coli</i> urinary tract isolates only.   |
| O   | Mecillinam              | 10 µg        | ≥15  | –   | 12–14 | ≤11  | ≤8                                | –   | 16        | ≥32    |  |
| <b>β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS</b>  |                         |              |  |     |       |      |                                   |     |           |        |  |
| B   | Amoxicillin-clavulanate | 20/10 µg     | ≥18  | –   | 14–17 | ≤13  | ≤8/4                              | –   | 16/8      | ≥32/16 |  |
| B   | Ampicillin-sulbactam    | 10/10 µg     | ≥15  | –   | 12–14 | ≤11  | ≤8/4                              | –   | 16/8      | ≥32/16 |  |
| B   | Ceftolozane-tazobactam  | –            | –  | –   | –     | ≤2/4 | –                                 | 4/4 | –         | ≥8/4   |  |
| B   | Piperacillin-tazobactam | 100/10 µg    | ≥21  | –   | 18–20 | ≤17  | ≤16/4                             | –   | 32/4–64/4 | ≥128/4 |  |
| O   | Ticarcillin-clavulanate | 75/10 µg     | ≥20  | –   | 15–19 | ≤14  | ≤16/2                             | –   | 32/2–64/2 | ≥128/2 |  |
| <b>CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)</b>  |                         |              |  |     |       |      |                                   |     |           |        |  |
| <p>(6) <b>WARNING:</b> For <i>Salmonella</i> spp. and <i>Shigella</i> spp., first- and second-generation cephalosporins and cephamycins may appear active <i>in vitro</i>, but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.</p> <p>(7) Following evaluation of PK-PD properties, limited clinical data, and MIC distributions, revised interpretive criteria for cephalosporins (cefazolin, cefotaxime, ceftazidime, ceftizoxime, and ceftioxime) and aztreonam were first published in January 2010 (M100-S20) and are listed in this table. Cefuroxime (parenteral) was also evaluated; however, no change in interpretive criteria was necessary for the dosage indicated below. When using the current interpretive criteria, routine ESBL testing is no longer necessary before reporting results (ie, it is no longer necessary to edit results for cephalosporins, aztreonam, or penicillins from susceptible to resistant). However, ESBL testing may still be useful for epidemiological or infection control purposes. For laboratories that have not implemented the current interpretive criteria, ESBL testing should be performed as described in Table 3A.</p> <p>Note that interpretive criteria for drugs with limited availability in many countries (eg, moxalactam, cefonicid, cefamandole, and cefoperazone) were not evaluated. If considering use of these drugs for <i>E. coli</i>, <i>Klebsiella</i>, or <i>Proteus</i> spp., ESBL testing should be performed (see Table 3A). If isolates test ESBL positive, the results for moxalactam, cefonicid, cefamandole, and cefoperazone should be reported as resistant.</p> <p>(8) <i>Enterobacter</i>, <i>Citrobacter</i>, and <i>Serratia</i> may develop resistance during prolonged therapy with third-generation cephalosporins as a result of derepression of AmpC β-lactamase. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within 3 to 4 days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.</p> |                         |              |  |     |       |      |                                   |     |           |        |  |
| A   | Cefazolin               | 30 µg        | ≥23  | –   | 20–22 | ≤19  | ≤2                                | –   | 4         | ≥8     | (9) Interpretive criteria when cefazolin is used for therapy of infections other than uncomplicated UTIs due to <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , and <i>P. mirabilis</i> . Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 2 g every 8 h. See comment (7). |

Table 2A-1. (Continued)

| Test/Report Group   | Antimicrobial Agent       | Disk Content     | Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm) |       |       |           | MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ ) |     |    |           | Comments   |
|---|---------------------------|------------------|--|-------|-------|-----------|--|-----|----|-----------|--|
|   |                           |                  | S  | SDD   | I     | R         | S  | SDD | I  | R         |  |
| CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) (Continued) |                           |                  |  |       |       |           |  |     |    |           |  |
| U   | Cefazolin                 | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 15$  | –     | –     | $\leq 14$ | $\leq 16$                                      | –   | –  | $\geq 32$ | (10) Interpretive criteria when cefazolin is used for therapy of uncomplicated UTIs due to <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , and <i>P. mirabilis</i> . Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 12 h.<br><br>See additional information below under CEPHEMS (ORAL).  |
| C   | Ceftaroline               | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 23$  | –     | 20–22 | $\leq 19$ | $\leq 0.5$                                     | –   | 1  | $\geq 2$  | (11) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 600 mg every 12 h.   |
| B   | Cefepime                  | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 25$  | 19–24 | –     | $\leq 18$ | $\leq 2$                                       | 4–8 | –  | $\geq 16$ | (12) The interpretive criterion for susceptible is based on a dosage regimen of 1 g every 12 h. The interpretive criterion for SDD is based on dosing regimens that result in higher cefepime exposure, either higher doses or more frequent doses or both, up to approved maximum dosing regimens. See Appendix E for more information about interpretive criteria and dosing regimens. Also see the definition of SDD in the Instructions for Use of Tables section. |
| B   | Cefotaxime or ceftriaxone | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 26$  | –     | 23–25 | $\leq 22$ | $\leq 1$                                       | –   | 2  | $\geq 4$  | (13) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 24 h for ceftriaxone and 1 g every 8 h for cefotaxime.<br>See comment (7).   |
| B   |                           | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 23$  | –     | 20–22 | $\leq 19$ | $\leq 1$                                       | –   | 2  | $\geq 4$  |  |
| B   | Cefotetan                 | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 16$  | –     | 13–15 | $\leq 12$ | $\leq 16$                                      | –   | 32 | $\geq 64$ |  |
| B   | Cefoxitin                 | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –     | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16 | $\geq 32$ | (14) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of at least 8 g per day (eg, 2 g every 6 h).  |
| B   | Cefuroxime (parenteral)   | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –     | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16 | $\geq 32$ | (15) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1.5 g every 8 h.<br>See comment (7).   |

Table 2A-1. (Continued)

| Test/Report Group   | Antimicrobial Agent       | Disk Content     | Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm) |       |       |           | MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ ) |     |    |           | Comments   |
|---|---------------------------|------------------|--|-------|-------|-----------|--|-----|----|-----------|--|
|   |                           |                  | S  | SDD   | I     | R         | S  | SDD | I  | R         |  |
| CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) (Continued) |                           |                  |  |       |       |           |  |     |    |           |  |
| U   | Cefazolin                 | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 15$  | –     | –     | $\leq 14$ | $\leq 16$                                      | –   | –  | $\geq 32$ | (10) Interpretive criteria when cefazolin is used for therapy of uncomplicated UTIs due to <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , and <i>P. mirabilis</i> . Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 12 h.<br><br>See additional information below under CEPHEMS (ORAL).  |
| C   | Ceftaroline               | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 23$  | –     | 20–22 | $\leq 19$ | $\leq 0.5$                                     | –   | 1  | $\geq 2$  | (11) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 600 mg every 12 h.   |
| B   | Cefepime                  | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 25$  | 19–24 | –     | $\leq 18$ | $\leq 2$                                       | 4–8 | –  | $\geq 16$ | (12) The interpretive criterion for susceptible is based on a dosage regimen of 1 g every 12 h. The interpretive criterion for SDD is based on dosing regimens that result in higher cefepime exposure, either higher doses or more frequent doses or both, up to approved maximum dosing regimens. See Appendix E for more information about interpretive criteria and dosing regimens. Also see the definition of SDD in the Instructions for Use of Tables section. |
| B   | Cefotaxime or ceftriaxone | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 26$  | –     | 23–25 | $\leq 22$ | $\leq 1$                                       | –   | 2  | $\geq 4$  | (13) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 24 h for ceftriaxone and 1 g every 8 h for cefotaxime.<br>See comment (7).   |
| B   |                           | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 23$  | –     | 20–22 | $\leq 19$ | $\leq 1$                                       | –   | 2  | $\geq 4$  |  |
| B   | Cefotetan                 | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 16$  | –     | 13–15 | $\leq 12$ | $\leq 16$                                      | –   | 32 | $\geq 64$ |  |
| B   | Cefoxitin                 | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –     | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16 | $\geq 32$ | (14) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of at least 8 g per day (eg, 2 g every 6 h).  |
| B   | Cefuroxime (parenteral)   | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –     | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16 | $\geq 32$ | (15) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1.5 g every 8 h.<br>See comment (7).   |

Table ZA-1. (Continued)

| Test/Report Group  | Antimicrobial Agent  | Disk Content     | Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm) |     |       |           | MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ ) |     |       |           | Comments   |
|--|--|------------------|--|-----|-------|-----------|--|-----|-------|-----------|--|
|  |  |                  | S  | SDD | I     | R         | S  | SDD | I     | R         |  |
| <b>CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) (Continued)</b> |  |                  |  |     |       |           |  |     |       |           |  |
| C  | Ceftazidime  | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 21$  | –   | 18–20 | $\leq 17$ | $\leq 4$                                       | –   | 8     | $\geq 16$ | (16) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h. See comment (7).  |
| O  | Cefamandole  | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –   | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16    | $\geq 32$ | See comment (7).   |
| O  | Cefmetazole  | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –   | 13–15 | $\leq 12$ | $\leq 16$                                      | –   | 32    | $\geq 64$ | (17) Insufficient new data exist to reevaluate interpretive criteria listed here.  |
| O  | Cefonicid  | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –   | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16    | $\geq 32$ | See comment (7).   |
| O  | Cefoperazone   | 75 $\mu\text{g}$ | $\geq 21$  | –   | 16–20 | $\leq 15$ | $\leq 16$                                      | –   | 32    | $\geq 64$ | See comment (7).   |
| O  | Ceftizoxime  | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 25$  | –   | 22–24 | $\leq 21$ | $\leq 1$                                       | –   | 2     | $\geq 4$  | (18) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 12 h. See comment (7).   |
| O  | Moxalactam   | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 23$  | –   | 15–22 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16–32 | $\geq 64$ | See comment (7).   |
| <b>CEPHEMS (ORAL)</b>  |  |                  |  |     |       |           |  |     |       |           |  |
| B  | Cefuroxime   | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 23$  | –   | 15–22 | $\leq 14$ | $\leq 4$                                       | –   | 8–16  | $\geq 32$ | See comment (19).  |
| U  | Cefazolin (surrogate test for oral cephalosporins and uncomplicated UTI) | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 15$  | –   | –     | $\leq 14$ | $\leq 16$                                      | –   | –     | $\geq 32$ | (19) Interpretive criteria are for cefazolin when cefazolin results are used to predict results for the oral agents cefaclor, cefdinir, cefpodoxime, cefprozil, cefuroxime, cephalexin, and loracarbef when used for therapy of uncomplicated UTIs due to <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , and <i>P. mirabilis</i> .<br><br>Cefdinir, cefpodoxime, and cefuroxime may be tested individually because some isolates may be susceptible to these agents while testing resistant to cefazolin. |
| O  | Loracarbef   | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –   | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16    | $\geq 32$ | (20) Do not test <i>Citrobacter</i> , <i>Providencia</i> , or <i>Enterobacter</i> spp. with cefdinir or loracarbef by disk diffusion because false-susceptible results have been reported. See comment (19).   |
| O  | Cefaclor   | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –   | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16    | $\geq 32$ | See comment (19).  |
| O  | Cefdinir   | 5 $\mu\text{g}$  | $\geq 20$  | –   | 17–19 | $\leq 16$ | $\leq 1$                                       | –   | 2     | $\geq 4$  | See comments (19) and (20).  |
| O  | Cefixime   | 5 $\mu\text{g}$  | $\geq 19$  | –   | 16–18 | $\leq 15$ | $\leq 1$                                       | –   | 2     | $\geq 4$  | (21) Do not test <i>Morganella</i> spp. with cefixime, cefpodoxime, or cefetamet by disk diffusion.  |
| O  | Cefpodoxime  | 10 $\mu\text{g}$ | $\geq 21$  | –   | 18–20 | $\leq 17$ | $\leq 2$                                       | –   | 4     | $\geq 8$  | See comments (19) and (21).  |
| O  | Cefprozil  | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –   | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 8$                                       | –   | 16    | $\geq 32$ | (22) Do not test <i>Providencia</i> spp. with cefprozil by disk diffusion because false-susceptible results have been reported. See comment (19).  |

10

M1005, 26th ed.



Table 2A-1. (Continued)

| Test/Report Group  | Antimicrobial Agent | Disk Content     | Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm) |     |       |           | MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ ) |     |    |           | Comments   |
|--|---------------------|------------------|--|-----|-------|-----------|--|-----|----|-----------|--|
|  |                     |                  | S  | SDD | I     | R         | S  | SDD | I  | R         |  |
| <b>CEPHEMS (ORAL) (Continued)</b>  |                     |                  |  |     |       |           |  |     |    |           |  |
| Inv.   | Cefetamet           | 10 $\mu\text{g}$ | $\geq 18$  | –   | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 4$                                       | –   | 8  | $\geq 16$ | See comment (21).  |
| Inv.   | Ceftibuten          | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 21$  | –   | 18–20 | $\leq 17$ | $\leq 8$                                       | –   | 16 | $\geq 32$ | (23) For testing and reporting of urine isolates only.   |
| <b>MONOBACTAMS</b>   |                     |                  |  |     |       |           |  |     |    |           |  |
| C  | Aztreonam           | 30 $\mu\text{g}$ | $\geq 21$  | –   | 18–20 | $\leq 17$ | $\leq 4$                                       | –   | 8  | $\geq 16$ | (24) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h. See comment (7).    |
| <b>CARBAPENEMS</b>   |                     |                  |  |     |       |           |  |     |    |           |  |
| <p>(25) Following evaluation of PK-PD properties, limited clinical data, and MIC distributions that include recently described carbapenemase-producing strains, revised interpretive criteria for carbapenems were first published in June 2010 (M100-S20-U) and are listed below. Because of limited treatment options for infections caused by organisms with carbapenem MICs or zone diameters in the intermediate range, clinicians may wish to design carbapenem dosage regimens that use maximum recommended doses and possibly prolonged intravenous infusion regimens, as has been reported in the literature.<sup>1-4</sup> Consultation with an infectious diseases practitioner is recommended for isolates for which the carbapenem MICs or zone diameter results from disk diffusion testing are in the intermediate or resistant ranges.</p> <p>Laboratories using <i>Enterobacteriaceae</i> MIC interpretive criteria for carbapenems described in M100-S20 (January 2010) should perform the MHT, the Carba NP test, and/or a molecular assay when isolates of <i>Enterobacteriaceae</i> are suspicious for carbapenemase production based on imipenem or meropenem MICs of 2–4 <math>\mu\text{g/mL}</math> or ertapenem MIC of 2 <math>\mu\text{g/mL}</math> (refer to Tables 3B and 3C). After implementation of the current interpretive criteria, the MHT does not need to be performed other than for epidemiological or infection control purposes (refer to Table 3B).</p> <p>The following information is provided as background on carbapenemases in <i>Enterobacteriaceae</i> that are largely responsible for MICs and zone diameters in the intermediate and resistant ranges, and thus the rationale for setting revised carbapenem breakpoints:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>The clinical effectiveness of carbapenem treatment of infections produced by isolates for which the carbapenem MIC or disk diffusion test results are within the intermediate range is uncertain due to lack of controlled clinical studies.</li> <li>Imipenem MICs for <i>Proteus</i> spp., <i>Providencia</i> spp., and <i>Morganella morganii</i> tend to be higher (eg, MICs in the intermediate or resistant range) than meropenem or doripenem MICs. These isolates may have elevated imipenem MICs by mechanisms other than production of carbapenemases.</li> </ul> |                     |                  |  |     |       |           |  |     |    |           |  |
| B  | Doripenem           | 10 $\mu\text{g}$ | $\geq 23$  | –   | 20–22 | $\leq 19$ | $\leq 1$                                       | –   | 2  | $\geq 4$  | (26) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 500 mg every 8 h.                  |
| B  | Ertapenem           | 10 $\mu\text{g}$ | $\geq 22$  | –   | 19–21 | $\leq 18$ | $\leq 0.5$                                     | –   | 1  | $\geq 2$  | (27) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 24 h.                    |
| B  | Imipenem            | 10 $\mu\text{g}$ | $\geq 23$  | –   | 20–22 | $\leq 19$ | $\leq 1$                                       | –   | 2  | $\geq 4$  | (28) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 500 mg every 6 h or 1 g every 8 h. |
| B  | Meropenem           | 10 $\mu\text{g}$ | $\geq 23$  | –   | 20–22 | $\leq 19$ | $\leq 1$                                       | –   | 2  | $\geq 4$  | (29) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h.                     |

Table 2A-1. (Continued)

| Test/Report Group   | Antimicrobial Agent | Disk Content      | Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm) |     |       |           | MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ ) |     |     |           | Comments  |
|---|---------------------|-------------------|--|-----|-------|-----------|--|-----|-----|-----------|---|
|   |                     |                   | S  | SDD | I     | R         | S  | SDD | I   | R         |   |
| <b>AMINOGLYCOSIDES</b>  |                     |                   |  |     |       |           |  |     |     |           |   |
| (30) WARNING: For <i>Salmonella</i> spp. and <i>Shigella</i> spp., aminoglycosides may appear active <i>in vitro</i> but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.  |                     |                   |  |     |       |           |  |     |     |           |   |
| A   | Gentamicin          | 10 $\mu\text{g}$  | $\geq 15$  | –   | 13–14 | $\leq 12$ | $\leq 4$                                       | –   | 8   | $\geq 16$ |   |
| A   | Tobramycin          | 10 $\mu\text{g}$  | $\geq 15$  | –   | 13–14 | $\leq 12$ | $\leq 4$                                       | –   | 8   | $\geq 16$ |   |
| B   | Amikacin            | 30 $\mu\text{g}$  | $\geq 17$  | –   | 15–16 | $\leq 14$ | $\leq 16$                                      | –   | 32  | $\geq 64$ |   |
| O   | Kanamycin           | 30 $\mu\text{g}$  | $\geq 18$  | –   | 14–17 | $\leq 13$ | $\leq 16$                                      | –   | 32  | $\geq 64$ |   |
| O   | Netilmicin          | 30 $\mu\text{g}$  | $\geq 15$  | –   | 13–14 | $\leq 12$ | $\leq 8$                                       | –   | 16  | $\geq 32$ |   |
| O   | Streptomycin        | 10 $\mu\text{g}$  | $\geq 15$  | –   | 12–14 | $\leq 11$ | –  | –   | –   | –         | (31) There are no MIC interpretive standards.   |
| <b>MACROLIDES</b>   |                     |                   |  |     |       |           |  |     |     |           |   |
| Inv.  | Azithromycin        | 15 $\mu\text{g}$  | $\geq 13$  | –   | –     | $\leq 12$ | $\leq 16$                                      | –   | –   | $\geq 32$ | (32) <i>Salmonella</i> Typhi only; Interpretive criteria are based on MIC distribution data.                            |
| <b>TETRACYCLINES</b>  |                     |                   |  |     |       |           |  |     |     |           |   |
| (33) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline, minocycline, or both. |                     |                   |  |     |       |           |  |     |     |           |   |
| C   | Tetracycline        | 30 $\mu\text{g}$  | $\geq 15$  | –   | 12–14 | $\leq 11$ | $\leq 4$                                       | –   | 8   | $\geq 16$ |   |
| O   | Doxycycline         | 30 $\mu\text{g}$  | $\geq 14$  | –   | 11–13 | $\leq 10$ | $\leq 4$                                       | –   | 8   | $\geq 16$ |   |
| O   | Minocycline         | 30 $\mu\text{g}$  | $\geq 16$  | –   | 13–15 | $\leq 12$ | $\leq 4$                                       | –   | 8   | $\geq 16$ |   |
| <b>QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for Enterobacteriaceae except Salmonella spp. (Please refer to Glossary I.)</b>  |                     |                   |  |     |       |           |  |     |     |           |   |
| B   | Ciprofloxacin       | 5 $\mu\text{g}$   | $\geq 21$  | –   | 16–20 | $\leq 15$ | $\leq 1$                                       | –   | 2   | $\geq 4$  |   |
| B   | Levofloxacin        | 5 $\mu\text{g}$   | $\geq 17$  | –   | 14–16 | $\leq 13$ | $\leq 2$                                       | –   | 4   | $\geq 8$  |   |
| O   | Cinoxacin           | 100 $\mu\text{g}$ | $\geq 19$  | –   | 15–18 | $\leq 14$ | $\leq 16$                                      | –   | 32  | $\geq 64$ | See comment (23).   |
| O   | Enoxacin            | 10 $\mu\text{g}$  | $\geq 18$  | –   | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 2$                                       | –   | 4   | $\geq 8$  |   |
| O   | Gatifloxacin        | 5 $\mu\text{g}$   | $\geq 18$  | –   | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 2$                                       | –   | 4   | $\geq 8$  |   |
| O   | Gemifloxacin        | 5 $\mu\text{g}$   | $\geq 20$  | –   | 16–19 | $\leq 15$ | $\leq 0.25$                                    | –   | 0.5 | $\geq 1$  | See comment (23).   |
| O   | Grepafloxacin       | 5 $\mu\text{g}$   | $\geq 18$  | –   | 15–17 | $\leq 14$ | $\leq 1$                                       | –   | 2   | $\geq 4$  |   |
| O   | Lomefloxacin        | 10 $\mu\text{g}$  | $\geq 22$  | –   | 19–21 | $\leq 18$ | $\leq 2$                                       | –   | 4   | $\geq 8$  |   |
| O   | Ofloxacin           | 5 $\mu\text{g}$   | $\geq 16$  | –   | 13–15 | $\leq 12$ | $\leq 2$                                       | –   | 4   | $\geq 8$  |   |
| U   | Nalidixic acid      | 30 $\mu\text{g}$  | $\geq 19$  | –   | 14–18 | $\leq 13$ | $\leq 16$                                      | –   | –   | $\geq 32$ | (34) These interpretive criteria are for urinary tract isolates of <i>Enterobacteriaceae</i> except <i>Salmonella</i> . |
| U   | Norfloxacin         | 10 $\mu\text{g}$  | $\geq 17$  | –   | 13–16 | $\leq 12$ | $\leq 4$                                       | –   | 8   | $\geq 16$ |   |
| Inv.  | Fleroxacin          | 5 $\mu\text{g}$   | $\geq 19$  | –   | 16–18 | $\leq 15$ | $\leq 2$                                       | –   | 4   | $\geq 8$  |   |

10

M100S, 26th ed.

Table 2A-1. (Continued)

| Test/Report Group   | Antimicrobial Agent                           | Disk Content                 | Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm) |             |                 |                     | MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ ) |             |                              |                                  | Comments  |
|---|---|------------------------------|--|-------------|-----------------|---------------------|--|-------------|------------------------------|----------------------------------|---|
|   |   |                              | S  | SDD         | I               | R                   | S  | SDD         | I                            | R                                |   |
| <b>QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for <i>Salmonella</i> spp. (Please refer to Glossary I.)</b>   |   |                              |  |             |                 |                     |  |             |                              |                                  |   |
| (35) For testing and reporting of <i>Salmonella</i> spp. (including <i>S. Typhi</i> and <i>S. Paratyphi</i> A–C). Routine susceptibility testing is not indicated for nontyphoidal <i>Salmonella</i> spp. isolated from intestinal sources.<br>See comment (2). |   |                              |  |             |                 |                     |  |             |                              |                                  |   |
| B<br>B<br>O   | Ciprofloxacin<br>Levofloxacin<br>Ofloxacin    | 5 $\mu\text{g}$<br>–<br>–    | $\geq 31$<br>–<br>–                                    | –<br>–<br>– | 21–30<br>–<br>– | $\leq 20$<br>–<br>– | $\leq 0.06$<br>$\leq 0.12$<br>$\leq 0.12$      | –<br>–<br>– | 0.12–0.5<br>0.25–1<br>0.25–1 | $\geq 1$<br>$\geq 2$<br>$\geq 2$ | (36) Strains of <i>Salmonella</i> spp. that test nonsusceptible to ciprofloxacin, levofloxacin, ofloxacin, pefloxacin, or nalidixic acid may be associated with clinical failure or delayed response in fluoroquinolone-treated patients with salmonellosis.  |
| O   | Nalidixic acid                                | 30 $\mu\text{g}$             | $\geq 19$  | –           | 14–18           | $\leq 13$           | $\leq 16$                                      | –           | –                            | $\geq 32$                        | See comments (36) and (37).   |
| Inv.  | Pefloxacin (surrogate test for ciprofloxacin) | 5 $\mu\text{g}$              | $\geq 24$  | –           | –               | $\leq 23$           | –  | –           | –                            | –                                | (37) If a ciprofloxacin, levofloxacin, or ofloxacin MIC test cannot be done, pefloxacin disk diffusion may be used as a surrogate test. Because pefloxacin is not available in the United States, a ciprofloxacin disk alone or both ciprofloxacin and nalidixic acid disks could also be tested.<br><br>(38) No single test detects resistance resulting from all possible fluoroquinolone resistance mechanisms that have been identified in <i>Salmonella</i> spp. |
| <b>FOLATE PATHWAY INHIBITORS</b>  |   |                              |  |             |                 |                     |  |             |                              |                                  |   |
| B   | Trimethoprim-sulfamethoxazole                 | 1.25/<br>23.75 $\mu\text{g}$ | $\geq 16$  | –           | 11–15           | $\leq 10$           | $\leq 2/38$                                    | –           | –                            | $\geq 4/76$                      | See comment (2).  |
| U   | Sulfonamides                                  | 250 or<br>300 $\mu\text{g}$  | $\geq 17$  | –           | 13–16           | $\leq 12$           | $\leq 256$                                     | –           | –                            | $\geq 512$                       | (39) Sulfisoxazole can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.  |
| U   | Trimethoprim                                  | 5 $\mu\text{g}$              | $\geq 16$  | –           | 11–15           | $\leq 10$           | $\leq 8$                                       | –           | –                            | $\geq 16$                        |   |



Table 2A-1. (Continued)

| Test/Report Group  | Antimicrobial Agent | Disk Content      | Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm) |     |       |           | MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ ) |     |     |            | Comments  |
|--------------------|---------------------|-------------------|--|-----|-------|-----------|--|-----|-----|------------|---|
|                    |                     |                   | S  | SDD | I     | R         | S  | SDD | I   | R          |   |
| <b>PHENICOLS</b>   |                     |                   |  |     |       |           |  |     |     |            |   |
| C                  | Chloramphenicol     | 30 $\mu\text{g}$  | $\geq 18$  | –   | 13–17 | $\leq 12$ | $\leq 8$                                       | –   | 16  | $\geq 32$  | (40) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.   |
| <b>FOSFOMYCINS</b> |                     |                   |  |     |       |           |  |     |     |            |   |
| U                  | Fosfomycin          | 200 $\mu\text{g}$ | $\geq 16$  | –   | 13–15 | $\leq 12$ | $\leq 64$                                      | –   | 128 | $\geq 256$ | (41) For testing and reporting of <i>E. coli</i> urinary tract isolates only.<br>(42) The 200- $\mu\text{g}$ fosfomycin disk contains 50 $\mu\text{g}$ of glucose-6-phosphate.<br>(43) The only approved MIC method for testing is agar dilution using agar media supplemented with 25 $\mu\text{g/mL}$ of glucose-6-phosphate. Broth dilution MIC testing should not be performed. |
| <b>NITROFURANS</b> |                     |                   |  |     |       |           |  |     |     |            |   |
| U                  | Nitrofurantoin      | 300 $\mu\text{g}$ | $\geq 17$  | –   | 15–16 | $\leq 14$ | $\leq 32$                                      | –   | 64  | $\geq 128$ |   |

Abbreviations: ATCC®, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; ESBL, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase; I, intermediate; MHA, Mueller-Hinton agar; MHT, modified Hodge test; MIC, minimal inhibitory concentration; PK-PD, pharmacokinetic-pharmacodynamic; QC, quality control; R, resistant; S, susceptible; SDD, susceptible-dose dependent; UTI, urinary tract infection.