

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

FERNANDA KAZUE GADELHA KUBOTA
BRUNO MINARDI SABBÁ DE ALENCAR

**PESQUISA DE ENTEROBACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES EM MORANGO,
TOMATE E ALFACE COMERCIALIZADOS EM BRASÍLIA-DF**

BRASÍLIA

2021

**FERNANDA KAZUE GADELHA KUBOTA
BRUNO MINARDI SABBÁ DE ALENCAR**

**PESQUISA DE ENTEROBACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES EM MORANGO,
TOMATE E ALFACE COMERCIALIZADOS EM BRASÍLIA-DF**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa.

Orientação: Fabíola Fernandes dos Santos Castro.

BRASÍLIA

2021

AGRADECIMENTOS

À professora Fabíola Fernandes dos Santos Castro, pela orientação e paciência;

Ao Lula do Labocien, pela disponibilidade e ajuda prestada;

Ao UniCeub, pela oportunidade de realizar este projeto;

Ao apoio de nossos pais e amigos próximos;

Nossos sinceros agradecimentos!

RESUMO

O presente trabalho objetivou determinar a identificação de enterobactérias multirresistente em morango, alface e tomate comercializados em Brasília - DF, além de investigar e confirmar a resistência dos microrganismos isolados aos antibióticos Ampicilina, Cefalexina, Meropenem e Ertapenem. Foram coletadas e analisadas 20 amostras, sendo compostas por 7 amostras de alface, 7 amostras de tomate e 6 amostras de morango, de regiões diferentes do Distrito Federal. As 20 amostras foram enriquecidas em caldo lactosado e transpostas para meio seletivo composto por ágar MacConkey, onde foram cultivadas por 24 horas. Das 20 amostras, 12 positivaram para bactérias Gram negativa com crescimento de colônia em meio seletivo, sendo 2 amostras descartadas devido a contaminação por outros microrganismos. As 10 amostras restantes foram analisadas e identificadas bioquimicamente com auxílio do kit para enterobactérias da NewProv e do software Indentax. Foi realizado teste de sensibilidade nas amostras positivas por meio do método de Kirby Bauer, de acordo com BrCast 2021. Os agentes identificados corresponderam às espécies *Providencia alcalifaciens*, *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter gergoviae* ou *Enterobacter aerogenes* (amostras 10, 18 e 20) e *Klebsiella ornithinolytica*, desses, duas amostras de *Salmonella enteritidis* apresentaram múltipla resistência aos antimicrobianos testados, sendo que uma delas apresentou resistência a todos os quatro antimicrobianos testados. Foi constatado também, elevada resistência à Ampicilina, sendo 9 das 10 amostras resistentes ao medicamento. A amostra de número 15, resistentes aos 4 antimicrobianos simultaneamente, foi testada para betalactamase, positivando para a Carbapenemase do tipo Metalobetalactamase. Em suma, conclui-se que a qualidade higiênico-sanitária dos vegetais comercializados no Distrito Federal se mantém duvidosa devido a identificação de *Salmonella enteritidis* nas amostras coletadas. Além disso, o achado de bacilos multirresistentes chama a atenção para maiores pesquisas na área, bem como para a importância do uso racional de antimicrobianos.

Palavras-chave: Enterobactérias; Multirresistência; Microbiologia.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Identificação, local da coleta e crescimento de colônias. (Página 19)

TABELA 2: Análise bioquímica (Página 19)

TABELA 3: Identificação (Página 20)

TABELA 4: Diâmetro do halo de inibição por disco difusor de antimicrobiano (em milímetros). (Página 22)

TABELA 5: Pontos de corte por diâmetro do halo (em milímetros). (Página 22)

TABELA 6: Teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA). (Página 23)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	07
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	08
2.1	CONTAMINAÇÃO DE ALIMENTOS FRESCOS (FRUTAS E VERDURAS)	08
2.2	ENTEROBACTÉRIAS	09
2.2.1	Escherichia	10
2.2.2	Salmonella	11
2.2.3	Shingella	11
2.2.4	Klebsiella	12
2.2.5	Serratia	12
2.2.6	Proteus	12
2.3	RESISTÊNCIA BACTERIANA DAS ENTEROBACTÉRIAS E COMPOSIÇÃO DO TRATO GASTROINTESTINAL	12
3	MÉTODO	16
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
6	REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

A manutenção de uma dieta saudável durante o curso de vida é de fundamental importância para a prevenção da desnutrição, prevenção de doenças e de condições não transmissíveis, tais como doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes, além de atuar diretamente no aumento da qualidade de vida e da longevidade. A Organização Mundial de Saúde (OMS), sugere que a ingestão de frutas, vegetais e legumes devem constituir a base de uma alimentação saudável, sendo composta no mínimo por 400g ou 5 porções desses alimentos por dia, preferencialmente crus ou cozidos, e de forma variada, garantindo assim uma boa oferta de nutrientes e fibras necessários para o adequado funcionamento metabólico (WHO, 2015).

Tais alimentos podem ser classificados em alimentos in natura, quando são obtidos diretamente de plantas ou animais e que são adquiridos para o consumo sem que tenham sofrido qualquer alteração após deixarem a natureza; ou podem sofrer alguma alteração antes de serem adquiridos, como limpeza, remoção de partes não comestíveis e refrigeração, sendo classificados como alimentos minimamente processados (Brasil, 2014).

O processamento mínimo inclui desde as operações de limpeza, lavagem, seleção, Descascamento e corte, até a embalagem e armazenamento, interferindo nos fatores físicos, químicos e biológicos responsáveis pela deterioração do produto in natura. Normalmente, frutas, hortaliças e vegetais possuem uma microbiota natural proveniente do ambiente onde foi cultivada, sendo constituída normalmente por microrganismos não patogênicos para o homem (Bruno et al, 2005).

Contudo, para os autores, alterações nas práticas agronômicas de cultivo, como o uso de esterco animal como fertilizante e de água não tratada para irrigação, assim como alterações em qualquer etapa do processamento (manuseio sob condições inadequadas de higiene, higienização precária de equipamentos, armazenamento em local não refrigerado), contribuem para a elevação da microbiota nesses alimentos, bem como para o aumento do risco da presença de bactérias patogênicas em tais produtos.

Viegas (2014) sugere que um alimento pode alterar o estado de saúde do consumidor mesmo sem estar com aparência, sabor ou odor alterado. Logo, os microrganismos que provocam mal-estar ou, as chamadas doenças transmitidas por alimentos, são adquiridos via ingestão de tais produtos, principalmente quando consumidos em sua forma crua, uma vez

que o processo de cozimento em altas temperaturas elimina a maioria desses microrganismos.

Para Bezerra (2015), itens alimentícios como hortaliças, frutas e verduras atuam como veículo para transporte ou proliferação de patógenos, causando doenças e intoxicações alimentares, sobretudo quando apresentam resistência à medicamentos, o que dificulta o tratamento. Além disso, constitui uma das principais causas de morbidade presente em países em desenvolvimento, sendo os principais microrganismos vinculados a tais episódios a *Escherichia coli O157:H7*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*.

Diante do exposto, a pesquisa desses microrganismos é de fundamental importância para a Saúde Pública e instituições responsáveis pelo monitoramento da qualidade alimentar, uma vez que constitui indicador da qualidade higiênico-sanitária de alimentos comercializados e possibilita o reconhecimento de possíveis patógenos resistentes nos alimentos, contribuindo para melhor manejo medicamentoso no tratamento das doenças vinculadas a alimentação.

Assim, com este estudo, buscou-se identificar a presença de enterobactérias multirresistentes em morango, tomate e alface comercializados em estabelecimentos formais e não formais localizados no Distrito Federal, como supermercados, feiras livres e Centrais de Abastecimento, além de investigar e confirmar a sensibilidade dos microrganismos isolados em relação aos antimicrobianos Ampicilina, Ertapenem, Meropenem e Cefoxitina.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CONTAMINAÇÃO DE ALIMENTOS FRESCOS (FRUTAS E VERDURAS)

Para Carvalho (2010), é necessárias boas práticas agrícolas para se evitar a contaminação de produtos frescos. De acordo com o autor, as principais formas de contaminação microbiológica de frutas e verduras antes de serem comercializadas ao consumidor, são o uso inadequado de esterco não curtido na adubação, principal fonte de contaminação por *Salmonella*, e a água de irrigação contaminada. Em relação a alimentos processados, a principal fonte de contaminação é a manipulação feita de forma inadequada, principalmente pelas mãos de manipuladores não higienizadas adequadamente.

São três os mecanismos principais nos quais as doenças alimentares são causadas: pela ingestão oral de microrganismos viáveis (infecção), pelas toxinas que eles produzem em quantidades suficientes para desenvolver uma patologia (intoxicação), ou por uma combinação destes mecanismos (toxicoinfecção). Dentre os diversos tipos de microrganismos que intervêm na contaminação de alimentos, as bactérias se mostram o grupo mais importante devido a sua diversidade e pela frequência na incidência nos alimentos, sendo capazes de se multiplicarem rapidamente, ocasionando doenças. Nesse sentido, as principais bactérias causadoras de surtos de origem alimentar são as *Salmonella spp.*, *Listeria spp.* e *Escherichia coli*, sendo que as doenças alimentares atualmente mais encontradas em todo o mundo são as salmonelose, listeriose e infecção por bactérias *Escherichia coli* (Veiga et al 2009).

Segundo Scott et.al (2002), a International Commission on Microbiological Specifications (ICMSF) agrupa os microrganismos em 2 grupos, um que não oferece risco direto à saúde e outro que oferecem risco direto ou indireto à saúde, como coliformes totais, coliformes fecais e bactérias da família Enterobacteriaceae. As bactérias pertencentes a esta família estão distribuídas globalmente e são encontradas no solo, água, vegetação e no trato intestinal de animais. A presença destes microrganismos nos alimentos demonstra uma falha no processamento do alimento ou uma contaminação pós-processamento. Logo, a pesquisa desses microrganismos nos alimentos sugere a qualidade com que esses chegam para o consumo da população nos estabelecimentos onde são comercializados.

2.2. ENTEROBACTÉRIAS

Enterobacteriaceae é um grupo heterogêneo de gamaproteobactérias, compostos por bastonetes gram negativos não produtores de esporos, anaeróbios facultativos, que podem ou não se locomover por flagelos peritríquios. São oxidase-negativa, catalase-positiva, nitrato e nitrito redutores e tem como requisito nutricional básico, produtos derivados da fermentação da glicose, além disso, possuem fímbrias, que ajudam na aderência a superfícies e da membrana mucosa. Esse grupo está amplamente distribuído na natureza, e muitas espécies vivem em intestinos de humanos e animais, podendo causar doenças entéricas ou permanecer como organismos comensais. Apenas uma pequena parte de seus integrantes são patógenos restritos, e sua maioria são consideradas como patógenos oportunistas (Morales et al, 2019).

Após a reclassificação taxonômica de Adlou et al. (2016), a ordem Enterobacteriales que possuía a família Enterobacteriaceae como única representante, passou a ser chamada de ordem *Enterobacterales*, sendo composta, agora, por 7 famílias, sendo elas: Enterobacteriaceae, Erwiniaceae, Pectobacteriaceae, Yersiniaceae, Hafniaceae, Morganellaceae, Budviciaceae. Contudo, como a ordem *Enterobacterales* contém o gênero *Enterobacter*, sua descrição é a mesma da família Enterobacteriaceae. Dentro da classificação, segundo Tortora et al, (2012), os gêneros de maior importância para saúde humana, principalmente por possuírem espécies patogênicas que podem estar relacionadas a doenças vinculadas a alimentação são os gêneros - *Escherichia.*, *Salmonella.*, *Shigella.*, *Klebsiella.*, *Serratia.*, *Proteus.* e *Enterobacter.*

2.2.1 Escherichia.

O principal representante do gênero é a *Escherichia Coli*, sendo a espécie bacteriana mais comum do trato gastrointestinal humano. Pode ser encontrada no solo e na água, e sua presença em alimentos é importante indicador de contaminação fecal. Dentre as bactérias causadoras de infecções em seres humanos, a *E.coli* é o agente etiológico mais frequente das infecções do trato urinário, acometendo, na grande maioria, mulheres e crianças.

Algumas espécies, como a *E. coli enterotoxigênica*, produzem enterotoxinas que causam a diarreia do viajante e ocasionalmente doenças de origem alimentar grave. Nesse sentido destaca se ainda a *E. coli enteroagregativa*, *E. coli enteroinvasiva* e *E. coli entero-hemorrágica*, esta última produz a toxina Shiga e possuem alta capacidade de aderência à mucosa intestinal, destroem as microvilosidades intestinais e induzem a formação de projeções semelhantes a pedestal, onde se alojam.

Criações de gado alimentados com rações derivadas de grãos, afeta o pH do trato gastrointestinal bovino, o que promove a colonização por *E. coli* entero-hemorrágica, e esta por sua vez, contamina a carne em frigoríficos, além do solo e da água de irrigação via esterco, conseqüentemente, contaminam folhagens, frutas e vegetais. Caso esses alimentos não sejam bem cozidos, são uma fonte potencial de infecção, podendo se apresentar como diarreia autolimitada ou em casos mais graves, como colite hemorrágica (sangramento profuso associado a inflamação do cólon).

2.2.2 Salmonella.

Quase todos os membros do gênero *Salmonella* são potencialmente patogênicos. Elas são habitantes comuns do trato intestinal de muitos animais, especialmente de ave doméstica e gado. Em condições sanitárias inadequadas, podem contaminar alimentos. Há uma única espécie, *Salmonella enterica*, e é dividida em mais de 2.400 sorovares (sorotipos).

São causadoras de diversas doenças, sendo a mais comum as salmoneloses, uma forma comum de infecção intestinal, e a de caráter mais grave, a febre tifóide, causada pela *Salmonella typhi*. A *Salmonella* invade a mucosa intestinal e ali se multiplica. Ocasionalmente ela dirige a passagem através da mucosa intestinal, nas células M, para penetrar nos sistemas linfático e cardiovascular e dali pode se disseminar, eventualmente, para afetar outros órgãos, além de se replicarem rapidamente dentro dos macrófagos. A gastroenterite costuma ser autolimitada, contudo, o paciente contaminado pode eliminar a *Salmonella* nas fezes por até 6 meses após a fase aguda da doença. A prevenção da contaminação depende de boas medidas de saneamento e de refrigeração correta para impedir o aumento no número de bactérias.

2.2.3 Shingella.

As espécies de *Shigella* são responsáveis por uma doença chamada de disenteria bacilar ou shigelose. Diferente das salmonelas, elas são encontradas apenas em humanos, pois não possuem reservatório natural nos animais e são transmitidas de pessoa a pessoa. Existem quatro espécies patogênicas de *Shigella*: *S. sonnei*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* e *S. boydii*, todas produzem uma toxina virulenta conhecida como toxina Shiga.

Uma vez no intestino grosso, as bactérias se fixam a determinadas células epiteliais. As projeções membranosas na superfície das células M levam as bactérias para o interior das células, onde se multiplicam rapidamente, e se disseminam para as células vizinhas, produzindo a toxina Shiga, que por sua vez, destrói os tecidos em volta. A disenteria é o resultado do dano às paredes intestinais. Após a recuperação parece haver certa imunidade, mas uma vacina satisfatória ainda não foi desenvolvida. Em casos graves de shigelose, a antibioticoterapia e a reidratação oral são indicadas. Atualmente, as fluoroquinolonas são os antibióticos de escolha.

2.2.4 Klebsiella.

Os membros do gênero *Klebsiella* são comumente encontrados no solo e na água. Muitos isolados são capazes de fixar o nitrogênio da atmosfera, sendo uma vantagem nutricional quando encontrados em populações humanas com pouco nitrogênio protéico na dieta. Seu organismo representativo é a espécie *Klebsiella pneumoniae*, que ocasionalmente causa uma forma grave de pneumonia em humanos.

Sua colonização em humanos ocorre, por contato com as diversas fontes ambientais e alimentares, e pode ser encontrada colonizando a orofaringe e fezes de pessoas saudáveis. No organismo de pessoas imunocomprometidas, essa bactéria encontra um ambiente adequado para seu crescimento, levando aos quadros de infecção.

Normalmente são restritas a ambientes nosocomiais, em imunodeprimidos hospitalizados ou em uso de dispositivos invasivos, como cateter, punção venosa periférica e sondas (Paula V., 2016).

2.2.5 Serratia.

Serratia marcescens é uma espécie bacteriana diferenciada por sua produção de um pigmento vermelho. Em hospitais, o organismo pode ser encontrado em cateteres, soluções salinas de irrigação e outras soluções supostamente estéreis. Tal contaminação é provavelmente a causa de muitas infecções urinárias e respiratórias em hospitais.

2.2.6 Proteus.

Apresentam, quando cultivadas em ágar, uma disposição em enxame, com série de anéis concêntricos. Seu representante é o *Proteus mirabilis*, responsável por infecções de trato respiratório e urinário de difícil tratamento. Em pacientes cateterizados, são responsáveis pela formação de urolitíase, obstrução do trato urinário e de cateteres, devido a formação de biofilme, tanto no lúmen, quanto na superfície (Melo, 2006).

2.3 RESISTÊNCIA BACTERIANA DAS ENTEROBACTÉRIAS E COMPOSIÇÃO DO TRATO GASTROINTESTINAL

De acordo com Paula e colaboradores (2016), é de extrema importância a compreensão das resistências aos antimicrobianos, uma vez que, norteia o uso correto dessas medicações na prática clínica, além de contribuir para o desenvolvimento de novos

antimicrobianos para superar a resistência. A automedicação, o descumprimento das doses, do horário, do tempo de duração do tratamento, bem como o percentual elevado de prescrições desses fármacos, são fatores que contribuem com a resistência bacteriana aos antimicrobianos.

Para os autores, a resistência aos antimicrobianos pode ocorrer de duas maneiras: por meio de forma natural ou inata, quando a bactéria já possui um mecanismo de defesa para determinado antibiótico, ou de forma adquirida, quando o antibiótico seleciona as bactérias mais resistentes e possibilita seu crescimento e desenvolvimento. Essa seleção acontece porque, em uma população de microrganismos, existem composições genéticas que conferem características diferentes a cada um deles, assim, as bactérias mais sensíveis são eliminadas pelo antibiótico, já as cepas resistentes se desenvolvem e transferem essa informação às suas células-filhas.

Importante ressaltar, ainda, que a resistência aos antimicrobianos pode ocorrer de forma cruzada, a partir da existência de múltiplos genes de resistência a diferentes antimicrobianos. Relacionado à resistência aos antimicrobianos, para os autores, existem ainda quatro grandes mecanismos que conferem a resistência aos antibióticos que são: a alteração da permeabilidade, a alteração do local de ação, a bomba de efluxo e o mecanismo enzimático que altera a estrutura química dos antibióticos.

De acordo com Kharousi et al (2019), há uma associação entre uso agrícola de antibióticos e infecções humanas com bactérias resistentes a antibióticos. A presença de bactérias patogênicas ou comensais resistentes a antimicrobianos em alimentos é particularmente preocupante, pois as pessoas costumam consumir frutas e vegetais crus. Bactérias comensais podem atuar como um reservatório para a transferência genes de resistência a bactérias patogênicas. E se esses alimentos ingeridos contém um número significativo de bactérias, isso poderia atuar como fonte de genes de resistência para a microbiota intestinal.

Ainda segundo Kharousi et al (2019), o principal meio de resistência bacteriana de enterobactérias gram-negativas são via produção de enzimas beta-lactamases bacterianas, que hidrolisam a porção Beta lactâmica dos antibióticos, alterando sua estrutura química, inativando-os. Nesse sentido, os autores ainda exemplificam que existem quatro tipos de beta-lactamases que podem ser produzidas pelas enterobactérias (tipo A, B, C, D). Seus

genes podem ser cromossômicos ou codificados por plasmídeos, e sua expressão pode ser induzíveis, via seleção ou instrutivo.

Cefoxitina e imipenem normalmente induzem AmpC b-lactamases (b-lactamase tipo C) fortemente, enquanto aztreonam, ceftazidima, cefuroxima e cefotaxima são indutores fracos. A indução de AmpC b - lactamase é um processo que resulta na produção de grandes quantidades dessas enzimas na presença de b-lactâmicos (indutores) e, portanto, a destruição do antimicrobiano.

Kharousi et al (2019), em pesquisa, evidenciou 78 de 105 amostras de 13 tipos de frutas e vegetais frescos, que positivaram para a presença de enterobactérias, e dessas, 234 patógenos foram isolados e identificados, sendo testados quanto a resistência a antimicrobianos por método de infusão. As enterobactérias encontradas apresentaram as maiores resistências a antibióticos contra ampicilina (66%), alotina (57%), ácido amoxicilina-clavulânico (33%) e cefoxitina (31%). Nove por cento das enterobactérias foram resistentes à tetraciclina. Porcentagens menores (7%, 6% e 5%) das enterobactérias eram resistentes ao ácido nalidíxico, trimetoprim e canamicina, respectivamente, sendo a resistência ao imipenem (3%), cloranfenicol (1%), e ertapenem (1%), apresentando menor porcentagem de resistência.

Todos os isolados de Enterobacteriaceae testados neste estudo eram suscetíveis ao aztreonam, cefotaxima e ceftazidima. Os isolados de E.coli foram resistentes a mais tipos de antibióticos do que outras enterobactérias testadas. Nove isolados (10%) de todas as enterobactérias (n ¼ 88) foram aceitáveis, enquanto 65 isolados (74%) eram resistentes a pelo menos um antibiótico. Quatorze isolados (16%) apresentaram resistência a múltiplas drogas, ou seja, resistência a três ou mais antibióticos pertencentes a diferentes classes.

Os autores salientam, ainda, que a alimentação pode ser uma fonte importante de bactérias resistentes a antibióticos que chegam aos seres humanos. Uma vez ingerido, os genes da resistência a antibióticos, se presentes nos plasmídeos dos bastonetes gram-negativos, podem ser transferidos para a microbiota intestinal humana, podendo gerar grandes repercussões para o portador.

A microbiota intestinal refere-se, segundo Castro e Paixão (2016), a uma variedade de microrganismos vivos, principalmente bactérias anaeróbias, que colonizam o intestino logo após o nascimento. É constituído por microbiota nativa e de transição temporária, sendo considerado como um dos ecossistemas mais complexos, com cerca de 1.000 bactérias

distintas. Consoante às autoras, as principais bactérias que compõem a microbiota entérica são divididas em benéficas e/ou probióticas e nocivas. Como exemplo de probióticas, há as Bifidobactérias e Lactobacilos (*Bacteroides spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*), e para as nocivas podem ser citadas a *Enterobacteriaceae* e *Clostridium spp.*

Para Castro e Paixão (2016), a microbiota intestinal é um ecossistema que age de forma simultânea e mútua com as células do hospedeiro por um processo de simbiose, no qual nenhum dos dois é prejudicado. A aderência de alguns micro-organismos na parede do intestino é um importante elemento que controla a composição das comunidades epiteliais e do lúmen. Certas bactérias apresentam estruturas de adesão diferentes na sua superfície, citadas como adesinas, as quais possibilitam o reconhecimento nos eritrócitos da mucosa, sendo possível dessa forma, a adesão da bactéria na parede do intestino, possibilitando a sua multiplicação.

Kharousi et al (2017), sintetizam que bactérias anaeróbicas facultativas das famílias de Enterobacteriaceae e Enterococcaceae, como *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis* e *E. faecium*, que podem fazer parte da colonização transitória do intestino via alimentação contaminada, emergiram como patógenos nosocomiais com resistência a múltiplas drogas (MDR). Assim, o intestino pode servir como um reservatório para patógenos oportunistas que podem causar infecção em indivíduos imunocomprometidos. Sendo de grande importância, principalmente em hospitais, pois esse grupo de indivíduos têm alto risco de se infectar com patógenos oportunistas.

Além disso, em concordância com os autores, devido ao grande uso de antibióticos, patógenos oportunistas resistentes a antibióticos podem proliferar no intestino desses pacientes, de onde esses patógenos podem encontrar o caminho para causar infecção por translocação através da barreira intestinal. A microbiota intestinal é relativamente estável em adultos saudáveis, mas mudanças na dieta, administração de antibióticos e invasão de novas espécies microbianas podem afetar a estabilidade da microbiota intestinal a uma extensão que é determinado principalmente por sua resiliência, que pode ser definida como a quantidade de estresse ou perturbação que um sistema pode tolerar antes de sua trajetória muda para um estado de equilíbrio diferente.

Os alimentos, no momento do consumo, podem estar contaminados por um grande número de bactérias antes de alterações detectáveis na comida podem ser notadas. Se as bactérias incorporadas neste tipo de alimento, incluindo produtos frescos, também são

resistentes a antibióticos, então há grande potencial que, após a ingestão e a semeadura da microflora residente com essas bactérias, pode ocorrer uma troca de genes resistentes com os micróbios comensais endógenos, via conjugação ou transdução, contribuindo para maior complexidade do Resistome intestinal. Este, refere-se aos genes de resistência a antibióticos hospedados pela microbiota intestinal.

Portanto, para Kharousi et al (2017), os alimentos podem servir como veículo para transmissão de bactérias resistentes a antibióticos para humanos ou como depósito de genes horizontais de transferência. Essas bactérias podem sobreviver no estômago e passar através do trato gastrointestinal, onde eles podem se multiplicar e colonizar por um período de tempo significativo.

Forslund et al (2013), em sua pesquisa, analisaram 43 amostras de fezes humanas em diferentes momentos e comparou a persistência da resistência a antibióticos determinantes dentro e entre amostras. Eles concluíram que o gene determinante da resistência a antibióticos pode persistir no intestino por um longo tempo após integrado à microbiota intestinal. Isso pode fornecer ao intestino, micróbios com tempo suficiente para a transferência horizontal de genes resistentes ou permitir que comensais resistentes raros ou patógenos oportunistas dominem o intestino durante o curso da antibioticoterapia em um tratamento de doenças gastrointestinais, contribuindo para maior seleção de cepas resistentes, bem como à falha do tratamento e agravamento do quadro do paciente.

3 **MÉTODO**

Este estudo consiste em uma pesquisa aplicada, de natureza qualitativa, exploratória, experimental, de delineamento transversal, realizada no Laboratório de Pesquisa, Ensino e Extensão (Labocien), do Centro Universitário de Brasília - UniCEUB, entre agosto de 2020 e agosto de 2021.

Tem como objeto de estudo produtos alimentícios frescos, especificamente, morangos, tomates e alfaces, comercializados em Brasília -DF, em um total de 20 amostras, sendo 7 amostras de tomate, 7 amostras de alface e 6 amostras de morango, de pelo menos 50g cada.

Cada amostra foi coletada aleatoriamente, em estabelecimentos comerciais formais e informais (supermercados, feiras livres e centrais de abastecimentos), localizados nas

seguintes Regiões Administrativas do Distrito Federal - Brazlândia, Asa Norte, Asa Sul, Planaltina, Sobradinho, Setor de Indústrias e Abastecimento e Lago Norte -, totalizando 20 amostras, independente de variedade, espécie ou forma de cultivo

As amostras foram coletadas de forma asséptica, com luvas de procedimento, e acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso, devidamente identificados e preservados em caixas térmicas, contendo gelo. Após coletadas e devidamente acondicionadas, foram encaminhadas ao laboratório de microbiologia do Labocien para o início das análises.

Cada amostra foi macerada individualmente, com o uso de almofariz e pilão, alocadas em recipiente individual devidamente identificado. Cada amostra passou por pesagem em balança digital de precisão, sendo separado 25g de cada alimento, seguidos de acondicionamento em frascos Erlenmeyer, previamente identificados. Em seguida, foi adicionado à cada amostra, 225ml de caldo Lactosado, seguido por homogeneização e vedação dos frascos com chumaço de algodão e gaze. Em seguida, as amostras foram incubadas em estufa seca, a 35 °C, por 24 horas, com o objetivo de enriquecer o caldo.

Após 24 horas, cada amostra foi semeada com auxílio de alça bacteriológica, em placas de Petri contendo ágar MacConkey, previamente identificadas, e incubadas em estufa seca por 24 horas, à 35°C. As colônias com características típicas de enterobactérias foram separadas para posterior identificação bioquímica das cepas cultivadas via Kit de identificação de enterobactérias (NewProv) e realização do Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA). As amostras que não apresentaram crescimento bacteriano foram descartadas do estudo.

As placas de ágar MacConkey com as colônias positivas para enterobactérias foram inoculadas, com auxílio de alça bacteriológica, em 4ml de salina, em tubo de ensaio, até a turbidez atingir 0,5 da escala de McFarland, sendo posteriormente semeadas em placas de Petri contendo ágar Müeller-Hinton com auxílio de um SWAB de algodão.

As placas semeadas ficaram por 5 minutos à temperatura ambiente, para que o inóculo fosse completamente absorvido pelo ágar, em seguida foram submetidas a aplicação de disco difusão de antimicrobiano para os seguintes antibióticos: Ampicilina, Cefoxitina, Ertapenem e Meropenem. Após aplicados os discos, as placas foram invertidas e incubadas em estufa por 18 horas a 35°C. Após 18 horas, as placas foram analisadas por meio do método de Kirby Bauer, sendo realizada a medição, com auxílio de régua, do diâmetro dos halos de inibição presentes nas amostras, considerando o halo de inibição a partir do ponto

onde não foi observado o crescimento bacteriano a olho nu. Em seguida, as amostras foram classificadas em sensíveis, intermediários ou resistentes de acordo com os critérios estabelecidos pelo BrCast 2021 (Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

A identificação das colônias foi realizada por meio de identificação bioquímica, com auxílio do kit para enterobactérias da NewProv, conforme instrução do próprio fabricante. O kit para enterobactérias da NewProv fornece um sistema de 5 tubos, cada um contendo meio de EPM, Caldo de lisina, Meio de MIO, Ágar Citrato de Simmons e Caldo de Rhamnose, que juntos fornecem dados relacionados à desaminação do L- Triptofano, fermentação da glicose, produção de gás a partir da glicose, produção de gás sulfídrico, descarboxilação da L-lisina, motilidade, produção de indol, descarboxilação da ornitina, utilização de citrato e fermentação da Rhamnose.

Após a leitura dos tubos de identificação, os dados bioquímicos foram analisados pela ferramenta Indentax, fornecida pelo próprio fabricante. Tal ferramenta calcula automaticamente, a partir dos resultados referentes às provas realizadas, as possíveis espécies de bactérias presentes na amostra e o percentual da probabilidade de cada uma, fornecendo uma identificação taxonômica de cada amostra analisada.

Os dados coletados pela identificação bioquímica e pelo teste de sensibilidade a antimicrobianos foram organizados e processados, via Planilhas Google, para a formulação de tabelas expositivas, relacionando as espécies bacterianas encontradas em cada amostra e a sensibilidade dessas espécies aos antimicrobianos Ampicilina, Cefoxitina, Ertapenem e Meropenem.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 20 amostras coletadas em estabelecimento comercial formal e informal em várias regiões do Distrito Federal, como expressado na Tabela 1, 12 amostras apresentaram crescimento em meio seletivo para bactérias gram negativas (Ágar MacConkey), sendo 4 provenientes da região de Planaltina, 3 da região da Asa Norte, 2 da Centrais de Abastecimento do Distrito Federal (CEASA) localizada na região do SIA, 1 proveniente da região de Brazlândia, 1 da região de Sobradinho e 1 da região da Asa Sul. Oito amostras não apresentaram crescimento bacteriano em Ágar MacConkey.

Das placas de Petri positivas para bactérias gram negativas em meio seletivo, 5 eram provenientes de amostras de tomate e 7 por amostras de alface, como expressado na Tabela 1. Nenhuma das 6 amostras de morango coletadas apresentou crescimento em meio seletivo no presente estudo.

AMOSTRA	PRODUTO	LOCAL DA COLETA	CRESCIMENTO EM ÁGAR MACCONKEY
1	Morango	Brazlândia	Negativo
2	Tomate	Planaltina	Negativo
3	Tomate	Ceasa - DF	Positivo
4	Tomate	Brazlândia	Positivo
5	Alface	Planaltina	Positivo
6	Alface	Asa Norte	Positivo
7	Tomate	Asa Norte	Negativo
8	Alface	Planaltina	Positivo
9	Morango	Asa Norte	Negativo
10	Tomate	Asa Norte	Positivo
11	Morango	Lago Norte	Negativo
12	Morango	Ceasa - DF	Negativo
13	Alface	Planaltina	Positivo
14	Alface	Ceasa - DF	Positivo
15	Alface	Sobradinho	Positivo
16	Morango	Asa Sul	Negativo
17	Morango	Planaltina	Negativo
18	Alface	Asa Norte	Positivo
19	Tomate	Ceasa - DF	Positivo
20	Tomate	Asa Sul	Positivo

Fonte: elaborado pelos autores. Agosto/2021.

Duas amostras foram retiradas do experimento devido à contaminação da placa de Petri por fungo, impossibilitando a análise bioquímica das respectivas colônias, totalizando em 10 amostras para identificação bioquímica e teste de sensibilidade a antimicrobianos (Tabelas 2, 3 e 4).

AMOSTRA	DESAMINAÇÃO DE L-TRIPTOFANO	FERMENTAÇÃO DE GLICOSE	PRODUÇÃO DE GÁS SULFIDRICO	DESCARBOXILAÇÃO DA L-LISINA	MOTILIDADE	DESCARBOXILAÇÃO DA ORNITINA	PRODUÇÃO DE INDOL	UTILIZAÇÃO DE CITRATO	FERMENTAÇÃO DE RHAMNOSE
3	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
5	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativa	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
6	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativa	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
8	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativa	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativa	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
13	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativa	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
15	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativa	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
18	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativa	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
20	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativa	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo

Fonte: elaborado pelos autores. Agosto/2021

A análise bioquímica (Tabela 2), bem como posterior identificação de cada amostra pelo software Indentax, evidenciou a presença de 4 espécies de enterobactérias: *Providencia alcalifaciens* (amostras 3 e 4), *Salmonella enteritidis*, (amostras 5, 6, 8 e 15) *Enterobacter gergoviae* ou *Enterobacter aerogenes* (amostras 10, 18 e 20) e *Klebsiella ornithinolytica* (amostra 13). O percentual de probabilidade, bem como o número da amostra correspondente à identificação bioquímica encontram-se na Tabela 3.

TABELA 3: IDENTIFICAÇÃO		
AMOSTRA	IDENTIFICAÇÃO TAXONOMICA	ESCORE DE IDENTIFICAÇÃO
3	<i>Providencia alcalifaciens</i>	97,74%
4	<i>Providencia alcalifaciens</i>	97,74%
5	<i>Salmonella enteritidis</i>	95,09%
6	<i>Salmonella enteritidis</i>	96,46%
8	<i>Salmonella enteritidis</i>	96,46%
10	<i>Enterobacter gergoviae</i> / <i>Enterobacter aerogenes</i>	54,15% / 18,11%
13	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	95,02%
15	<i>Salmonella enteritidis</i>	95,20%
18	<i>Enterobacter gergoviae</i> / <i>Enterobacter aerogenes</i>	54,15% / 18,11%
20	<i>Enterobacter gergoviae</i> / <i>Enterobacter aerogenes</i>	54,15% / 18,11%
Fonte: elaborado pels autores. Agosto/2021		

A presença desses microrganismos em vegetais in natura, principalmente *Providencia alcalifaciens*, *Salmonella enteritidis* e *Enterobacter aerogenes* as quais são tipicamente encontradas no trato gastrointestinal de humanos e animais, quando presente em alimentos, alerta para possível contaminação do produto no início da cadeia de produção, ou seja, ainda na lavoura. De acordo com Almeida et al (2013), a adubação orgânica na produção de vegetais, principalmente em hortaliças, possui importante papel na reposição dos nutrientes

do solo durante o cultivo desses produtos, gerando melhorias nas propriedades químicas e físicas do solo, aumentando sua produtividade a longo prazo.

Para alcançar tais melhorias, é rotineira a utilização de esterco proveniente de animais, sobretudo bovinos, que passam por processo de compostagem antes de sua utilização. Contudo, caso a compostagem seja erroneamente realizada, o material orgânico, contaminado pela microbiota intestinal desses animais, é exposto ao solo, tornando-se fonte de contaminação direta do alimento, além de fonte indireta de contaminação da água, que muitas vezes também é utilizada na produção dos vegetais, o que explicaria a presença de tais enterobactérias nas amostras analisadas.

O Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA), realizado pelo método de Kirby Bauer (Tabela 4), e posteriormente classificados em amostras sensíveis, intermediárias e resistentes pelo sistema BrCast (2021) - Tabela 5, confirmou uma espécie de *Salmonella enteritidis*, correspondente a amostra de identificação numérica 15, que apresentou resistência a todos os antimicrobianos testados – ampicilina, cefoxitina, meropenem e ertapenem. Além disso, oito espécies de enterobactérias apresentaram resistência à ampicilina, quatro apresentaram resistência à cefoxitina, duas ao meropenem e uma espécie apresentou sensibilidade intermediária ao ertapenem (Tabela 6). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os membros da família Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenêmicos são prioridade crítica para vigilância epidemiológica e pesquisa. De acordo com a entidade, microrganismos que apresentam resistência simultânea a três ou mais classes de antimicrobianos, independente do mecanismo de resistência, passam a ser considerados multirresistentes (WHO, 2015).

Por tal definição, podemos considerar a amostra de identificação número 15 e de número 5, correspondentes à espécie *Salmonella enteritidis*, encontradas em amostras de alface comercializado na região de Sobradinho e Planaltina, respectivamente, como microrganismos multirresistentes, já que apresentam resistência simultânea aos carbapenêmicos (meropenem/ertapenem), à classe das penicilinas (ampicilina) e à classe das cefalosporinas (cefoxitina). Somente a amostra de nº18 apresentou sensibilidade aos antibióticos testados.

TABELA 4: DIÂMETRO DO HALO DE INIBIÇÃO POR DISCO DIFUSOR DE ANTIMICROBIANO (em milímetros)

AMOSTRA	MICROORGANISMO	MEROPENEM	ERTAPENEM	CEFOXITINA	AMPICILINA
3	<i>Providencia alcalifaciens</i>	40	40	35	10
4	<i>Providencia alcalifaciens</i>	35	35	21	0
5	<i>Salmonella enteritidis</i>	40	17	0	0
6	<i>Salmonella enteritidis</i>	30	12	30	10
8	<i>Salmonella enteritidis</i>	42	29	0	0
10	<i>Enterobacter gergoviae / Enterobacter aerogenes</i>	35	38	30	0
13	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	40	37	10	10
15	<i>Salmonella enteritidis</i>	0	22	0	0
18	<i>Enterobacter gergoviae / Enterobacter aerogenes</i>	41	41	34	15
20	<i>Enterobacter gergoviae / Enterobacter aerogenes</i>	17	40	10	0

Fonte: elaborado pelos autores. Agosto/2021.

TABELA 5: PONTOS DE CORTE CLÍNICOS PARA A ORDEM *Enterobacterales* (BrCAST - 2021)

ANTIMICROBIANO	PONTOS DE CORTE POR DIÂMETRO DO HALO (em milímetros)		
	Sensível	Intermediário	Resistente
AMPICILINA	> ou = 14	-	<14
CEFOXITINA	> ou = 19	-	<19
ERTAPENEM	> ou = 25	-	<25
MEROPENEM	> ou = 22	16-22	<16

Fonte: BrCAST - EUCAST, 2021.

TABELA 6: TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS (TSA)					
AMOSTRA	MICROORGANISMO	MEROPENEM	ERTAPENEM	CEFOXITINA	AMPICILINA
3	<i>Providencia alcalifaciens</i>	S	S	S	R
4	<i>Providencia alcalifaciens</i>	S	S	S	R
5	<i>Salmonella enteritidis</i>	S	R	R	R
6	<i>Salmonella enteritidis</i>	S	R	S	R
8	<i>Salmonella enteritidis</i>	S	S	R	R
10	<i>Enterobacter gergoviae / Enterobacter aerogenes</i>	S	S	S	R
13	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	S	S	R	R
15	<i>Salmonella enteritidis</i>	R	R	R	R
18	<i>Enterobacter gergoviae / Enterobacter aerogenes</i>	S	S	S	S
20	<i>Enterobacter gergoviae / Enterobacter aerogenes</i>	I	S	R	R

Fonte: elaborado pelos autores. Adaptado de BrCAST - EUCAST, 2021.

Legenda: S (sensível), I (intermediário), R (resistente)

A *Salmonella enteritidis* é o sorotipo mais predominante em casos de salmoneloses em diversos países. Por ser uma enterobactéria presente no trato gastrointestinal de animais e humanos, sua presença detectada nos alimentos torna-se de elevada importância para a saúde pública, uma vez que é indicador direto da qualidade higiênico-sanitária de alimentos comercializados à população. A salmonelose, patologia decorrente desse microrganismo, ocorre via transmissão fecal-oral, que por sua vez, tem sua origem na água e alimentos contaminados. A contaminação de frutas e vegetais, como no caso das amostras positivas para *Salmonella enteritidis* achadas durante o estudo, demonstra possível controle inadequado da temperatura durante o armazenamento desses alimentos, e/ou adoção de práticas de manipulação incorretas, ou mesmo, contaminação durante o cultivo (Shinohara et al, 2008).

Em 2007, Rodrigues et al já haviam identificado a presença de *Salmonella enteritidis* na região de Brasília. De 30 amostras de alface analisadas, três amostras de alface comum e

duas amostras de alface hidropônica e orgânica apresentaram presença de *Salmonella*, evidenciando um problema recorrente na região.

Por se tratar de uma enterobactéria típica da microbiota intestinal de animais e humanos, a presença de *Salmonella enteritidis* resistentes às três classes de antibióticos (penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos), bem como as demais espécies encontradas no estudo, que apresentam algum grau de resistência, levanta-se a hipótese de que, a contaminação dos produtos provenientes do solo ou da água (utilizada no cultivo ou no acondicionamento), por tais enterobactérias resistentes a antimicrobianos, tem sua origem em paralelo ao uso de antimicrobianos em larga escala pela indústria da pecuária.

O Brasil é um dos maiores produtores de alimentos de origem animal, representando boa parte dos índices de exportação realizados pelo país. Para manter sua produtividade e competitividade em relação ao mercado internacional, a utilização de antimicrobianos para fins terapêuticos e profiláticos é praticada de forma rotineira pela indústria. Apesar do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento regulamentar e autorizar determinados antibióticos na indústria pecuária, a falta de fiscalização contribui para o uso em larga escala de forma indiscriminada desses medicamentos (Regitano e Leal, 2010).

Além desses compostos não serem metabolizados completamente pelo animal, sendo excretados junto às fezes, que, por sua vez, são reaproveitadas como fertilizantes orgânicos, propagando o acúmulo de antibióticos no ambiente, o uso de antimicrobianos indiscriminado promove a seleção de enterobactérias intestinais presente na microbiota dos animais, aumentando a incidência de enterobactérias com resistência aos antimicrobianos utilizados, como as encontradas no estudo. Uma vez excretadas nas fezes, as enterobactérias resistentes são expostas ao ambiente, diretamente ou via utilização de esterco animal não tratado para produção de verduras e hortaliças, contaminando, por fim, os produtos de origem vegetal.

No ponto de vista epidemiológico, é de fundamental importância o controle da contaminação por *Salmonella enteritidis*, uma vez que é responsável pela principal causa de toxinfecções alimentares no Brasil, predominante na faixa etária de indivíduos de 15 a 45 anos, e de maior morbimortalidade na faixa etária acima de 60 anos. Apesar dos coeficientes de morbimortalidades por tal patógeno tem tendência ao declínio nas últimas décadas, há de se ter cautela quanto a sua representatividade e fidedignidade, já que, o diagnóstico laboratorial, necessário para identificação do agente etiológico, nem sempre é realizado em

todos os casos suspeitos, bem como, a precariedade do sistema de informação brasileiro de notificação, que contribui para a subnotificação de dados e mascaramento da verdadeira situação epidemiológica da população afetada (Shinohara et al, 2008).

Em relação a Ampicilina, uma aminopenicilina de amplo espectro pertencente ao grupo dos antimicrobianos beta-lactâmicos, o estudo evidenciou elevado índice de resistência, sendo nove, dos dez agentes etiológicos identificados, completamente resistentes ao fármaco. O elevado grau de resistência sugere um mecanismo de resistência das enterobactérias via inibição de beta-lactamases, que tem se tornado cada vez mais comum no cotidiano, inviabilizando o uso deste antimicrobiano como terapia empírica de amplo espectro. Segundo Regitano e Leal (2010), os antibióticos mais utilizados na pecuária brasileira pertencem ao grupo dos betalactâmicos e das tetraciclina, o que explicaria a elevada resistência à ampicilina presente nas amostras.

A amostra de número 15 foi adicionalmente testada devido à presença de resistência à múltiplas drogas. A cepa foi submetida ao teste de triagem para betalactamase positivando para a Carbapenemase do tipo Metalobetalactamase. Para Abrantes e Nogueira (2017), as beta-lactamases são enzimas produzidas pelas bactérias que às atribuem a capacidade de resistência contra antibióticos beta-lactâmicos, via hidrólise da ligação amida do anel betalactâmico, fazendo com que o antimicrobiano passe a não ter mais a capacidade de inibir a síntese da parede celular bacteriana.

Algumas enterobactérias produzem Beta-lactamases do tipo Carbapenemase, tornando-as resistentes aos antibióticos carbapenêmicos, além de outros antimicrobianos beta-lactâmicos. Há diversos tipos de carbapenemases, e, segundo a classificação de Ambler, essas enzimas são agrupadas de acordo com a sequência de aminoácidos, sendo divididas em quatro classes distintas - A, B, C, D. Na classe A estão presentes as beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), que são inibidas pelo ácido clavulânico; a classe B compreende as metalobetalactamases, resistentes não só aos beta-lactâmicos, mas também aos inibidores de betalactamases; a classe C compreende as cefalosporinase ou AmpC (adenosina monofosfato cíclico) que, por si só, não conferem resistência aos carbapenêmicos; e a classe D, compostas pelas oxacilinases, que hidrolisam oxacilina e carbapenêmicos (Abrantes e Nogueira, 2017).

O grupo das Metalobetalactamases, a qual a cepa da amostra de número 15 apresentou positividade, possui vários subtipos, como as metalobetalactamases SPM, GIM,

VIM, IMP, AIM e NDM, esta última possuindo algumas variantes, sendo a NDM-1 a primeira a ser descrita. Devido a não identificação genética via PCR do DNA bacteriano, não foi possível identificar o subtipo da metalobetalactamase identificada. As metalobetalactamases estão presentes na família *Enterobacteriaceae* desde a década de 90, sendo o primeiro relato de ocorrência dessa carbapenemase no Brasil, descrito no ano de 2002.

A pressão seletiva que o uso de antimicrobianos em larga escala, principalmente pela indústria pecuarista com a intenção de realizar profilaxia ou induzir o crescimento animal, pode estar associada diretamente a presença de enterobactérias produtoras de metalobetalactamases em alimentos de origem animal, principalmente devido a utilização de esterco animal como fertilizante orgânico e pela contaminação direta do solo e da água.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a coleta, análise bioquímica, realização do teste de sensibilidade a antimicrobianos e levantamento de dados, identificou-se elevada taxa de contaminação, por enterobactérias, de vegetais frescos comercializados em Brasília-DF. A identificação de apenas uma das amostras analisadas no estudo apresentar sensibilidade aos quatro antimicrobianos testados, alerta para a presença de alimentos contaminados por microrganismos resistentes, que podem vir a ser consumidos pela população, ocasionando em surtos de infecções gastrointestinais, oneração do serviço de saúde e aumento da morbimortalidade de populações de risco, como idosos e imunodeprimidos.

A identificação da espécie *Salmonella enteritidis* corrobora com possíveis práticas de manipulação errôneas desses produtos, além de ser um importante indicador de medidas higiênicas-sanitárias dos estabelecimentos que produzem, transportam, armazenam e comercializam os vegetais frescos na região.

A presença de dois organismos resistentes à múltiplas drogas e a elevada resistência à ampicilina, alerta para o perigo do uso indiscriminado de antimicrobianos, tanto em uso humano, quanto em uso animal, culminando na geração de cepas bacterianas cada vez mais resistentes ao tratamento. Uma vez que essas enterobactérias resistentes à múltiplas drogas colonizam o trato gastrointestinal de humanos e animais e são eliminados no meio ambiente pelas fezes, esses patógenos passam a ser possíveis contaminantes de alimentos, que, ao serem ingeridos, propagam um ciclo vicioso de perpetuação dessas espécies na população.

Em casos de gastroenterites agudas por enterobactérias, que necessitam de uso de antibióticos, sugere-se associar a Ampicilina com inibidor de betalactamase, a título de exemplo a associação Ampicilina + Sulbactam, com o objetivo de aumentar o espectro do medicamento e contornar o mecanismo de resistência dos patógenos.

Portanto, faz-se necessário maior fiscalização dos estabelecimentos produtores e de comercialização de vegetais frescos, bem como, maiores estudos acerca do tema, objetivando a garantia da qualidade e da segurança dos alimentos ofertados, em estabelecimentos comerciais, à população local.

REFERÊNCIAS

Abrantes JA, Nogueira JMR. Utilização de testes fenotípicos para a pesquisa de carbapenamases em enterobactérias: uma ferramenta para orientação clínica. *Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca – ENSP/Fiocruz – Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2017.*

Adeolu M, Alnajjar S, Nauchad S, Gupta R. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: Proposal for enterobacterales ord. nov. divided into the families. Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2016.

Almeida AJ et al. Contaminação por *Cryptosporidium* spp. em esterco utilizado como adubo em hortas urbanas. *RPCV* (2013) 108 (585-586) 23-27.

Antunes L, Reisser C. Fragole, i produttori brasiliani mirano all é sportazione in Europa. *Frutticoltura* (Bologna), v. 69, p. 60-65, 2007.

Kharousi A, et al. Antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae Isolated from Fresh Fruits and Vegetables and Characterization of their AmpC β -Lactamases. *Journal of Food Protection*, 2019.

Kharousi A, et al. Fresh fruit and vegetable bacteria: Diversity, antibiotic resistance and their possible contribution to gut microbiota. In *Fruit and Vegetable Consumption*, ISBN: 978-1-53613-885-6, 2017, Nova Science Publishers, Inc.

Barbosa TA, et al. Avaliação microbiológica de couve minimamente processada comercializada nos supermercados de Brasília DF / Microbiological evaluation of minimally processed brassica commercialized in the supermarkets of Brasília - DF. *Hig. aliment* ; 31(272/273): 97-101, 30/10/2017. Artigo em Português | LILACS | ID: biblio-876174.

Bezerra NS. Pesquisa de *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em hortaliças comercializadas em estabelecimento formal e não formal de João Pessoa - PB. *Doctoral dissertation, Universidade Federal da Paraíba, 2015.*

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de atenção à saúde. Departamento de atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira. Ministério da saúde, secretaria de atenção à saúde, departamento de atenção Básica. – 2. ed. – Brasília, 2014.

Bruno L, Queiroz A, Andrade A, Vasconcelos N, Borges M. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em Fortaleza (CE). Bol. Cent. Pesqui. Proc. Aliment.. 2005.

Carvalho I. Microbiologia dos Alimentos. Programa Escola Técnica Aberta do Brasil (ETEC-Brasil). Recife: EDUFRPE, 2010.

EMATER -DF. Plano executivo de desenvolvimento sustentável da cadeia produtiva de hortaliças no Distrito Federal, 2009.

Forslund K, et al. Country-specific antibiotic use practices impact the human gut resistome. *Genome Res* , 23 (7), 1163-1169, 2013.

Macedo J. Multirresistência bacteriana e a consequência do uso irracional dos antibióticos. *Scire Salutis*, v.9, n.2, p.1-8, 2019. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2236-9600.2019.002.0001>.

Mazarro C. Tecnologias impulsionam o cultivo do morango no Distrito Federal. Emater-DF, 30/08/19 às 12h10-Atualizado em 30/08/19 às 12h34. Disponível em: <http://www.emater.df.gov.br/tecnologias-impulsionam-o-cultivo-do-morango-no-distrito-federal/> > acessado em 14/03/2020 às 21:16.

Melo D, Ribeiro E, Storpirtis S. A importância e a história dos estudos de utilização de medicamentos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, v. 42, n. 4, p.475-485, out./dez. 2006. doi: 10.1590/ S1516-93322006000400002.

Morales D, Yepes J, Herrera J, Jiménez A. Enterobacteria in the 21st century: a review focused on taxonomic changes. *J Infect Dev Ctries* 2019;13(4):265-273.doi:10.3855/jidc.11216.

Newell D, et al. Food-borne diseases - the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International journal of food microbiology*. 139 Suppl 1. S3-15. 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021.

Oliveira M, Wehrmann M, Sauer S. Agricultura familiar no Distrito Federal: a busca por uma produção sustentável. *Sustentabilidade em Debate - Brasília*, v. 6, n. 1, p. 53-69, jan/abr 2015.

Paixão L, Castro F. A colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. *Universitas: Ciências da Saúde, Brasília*, v. 14, n. 1, p. 85-96, jan./jun. 2016.

Paula V, Quintanilha L, Silva F, Rocha H, Santos F. Enterobactérias produtoras de carbapenemase: prevenção da disseminação de superbactérias em UTI's. *Universitas: Ciências da Saúde, Brasília*, v. 14, n. 2, p. 175-185, jul./dez. 2016. DOI: 10.5102/ucs.v14i2.3847.

Regitano JB, Leal RM. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo [online]*. 2010, v. 34, n. 3 [Acessado 13 Agosto 2021] , pp. 601-616.

Rodrigues C. Contaminação microbiológica em alface e couve comercializadas no varejo de Brasília-DF. Brasília, 2007. 29 p. Monografia (Graduação) – Universidade de Brasília – UnB.

Shinohara N, et al. Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. *Ciência & Saúde Coletiva [online]*. 2008, v. 13, n. 5 [Acessado 11 Agosto 2021] , pp. 1675-1683. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-81232008000500031>>. Epub 21 Ago 2008. ISSN 1678-4561. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232008000500031>.

Scout T, et al. Microbial source tracking: current methodology and future directions. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 5796–5803, 2002.

Sousa S, et al. Resistência antimicrobiana de enterobactérias isoladas a partir de frutas e hortaliças comercializadas em Capanema, Pará. 10.22533/at.ed.982193004426, 2019.

Tortora G, Berdell R, Christine L. *Microbiologia [recurso eletrônico]* 10. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre : Artmed, 2012.

Veiga A, et al. Perfil de Risco dos Principais Alimentos Consumidos em Portugal. *Autoridade de Segurança Alimentar e Económica.* 33-37, 2009.

Viegas S. Segurança Alimentar: Guia de boas práticas do consumidor. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, IP 2014.

World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance: draft global action plan on antimicrobial resistance: report by the Secretariat. World Health Assembly, n° 68, 2015. In: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/252848>.

World Health Organization (WHO). Healthy diet - updated May 2015, in Fact sheet n394.