

Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

# Pesquisa Científica e Tecnológica em Microbiologia



Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

# Pesquisa Científica e Tecnológica em Microbiologia



2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Lorena Prestes  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Faria – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobom – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
P474	<p>Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-772-7 DOI 10.22533/at.ed.727191111</p> <p>1. Microbiologia – Pesquisa – Brasil. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da.</p> <p style="text-align: right;">CDD 579</p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A microbiologia é um vasto campo que inclui o estudo dos seres vivos microscópicos nos seus mais variados aspectos como morfologia, estrutura, fisiologia, reprodução, genética, taxonomia, interação com outros organismos e com o ambiente além de aplicações biotecnológicas. Como uma ciência básica a microbiologia utiliza células microbianas para analisar os processos fundamentais da vida, e como ciência aplicada ela é praticamente a linha de frente de avanços importantes na medicina, agricultura e na indústria.

De forma integrada e colaborativa a nossa proposta apoiada e certificada pela editora Atena é apresentar aqui a obra “Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia” contendo trabalhos e pesquisas desenvolvidas em diversos institutos do território nacional contendo análises de processos biológicos embasados em células microbianas ou estudos científicos na fundamentação de atividades microbianas com capacidade de interferir nos processos de saúde/doença.

A microbiologia como ciência iniciou a cerca de 200 anos, entretanto os avanços na área molecular como a descoberta do DNA elevou a um novo nível os estudos desses seres microscópicos, além de abrir novas frentes de pesquisa e estudo, algumas das quais pretendemos demonstrar nesse primeiro volume da obra “Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia”. Sabemos na atualidade que os microrganismos são encontrados em praticamente todos os lugares, e a falta de conhecimento que havia antes da invenção do microscópio hoje não é mais um problema no estudo, principalmente das enfermidades relacionadas aos agentes como bactérias, vírus, fungos e protozoários.

Acreditamos no potencial dessa obra em primeiro lugar pela qualidade dos trabalhos aqui apresentados, e em segundo pelo campo em potencial para futuras novas discussões, haja vista que enfrentamos a questão da resistência dos microrganismos à drogas, identificação de viroses emergentes, ou reemergentes, desenvolvimento de vacinas e principalmente a potencialização do desenvolvimento tecnológico no estudo e aplicações de microrganismos de interesse.

Temas ligados à pesquisa e tecnologia microbiana são, deste modo, discutidos aqui com a proposta de fundamentar o conhecimento de acadêmicos, mestres e todos aqueles que de alguma forma se interessam pela saúde em seus aspectos microbiológicos. Portanto a obra propõe uma teoria bem fundamentada nos resultados práticos obtidos em alguns campos da microbiologia, abrindo perspectivas futuras para os demais pesquisadores de outras subáreas da microbiologia.

Assim desejo a todos uma ótima leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE MÁQUINAS E FERRAMENTAS PRESENTES EM UM LABORATÓRIO DE MECÂNICA	
Francisco Angelo Gurgel da Rocha Priscylla Cinthya Alves Gondim Liane Raquel Alves dos Santos Vitoria Fernandes Cabral Dantas	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7271911111</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>14</b>
ANALISE DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO EXTRATO AQUOSO DO ALHO ( <i>Allium sativum</i> L.) SOBRE O CRESCIMENTO DAS BACTÉRIAS <i>Staphylococcus aureus</i> E <i>Escherichia coli</i>	
Karine Ferreira Lopes Dayane Nair Rocha de Souza Débora Luiz de Barros Estefânia Isabel Pereira Ana Paula Gonçalves Coelho Glaysen Martins de Oliveira Suzanne Ramos Mota Andrea Amélia Silva Vieira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7271911112</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>22</b>
CAMUNDONGOS BALB/C INFECTADOS COM A CEPA 66985 DO VÍRUS DA DENGUE PELA VIA INTRAVENOSA EXIBE DANO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL	
Natália Gedeão Salomão Kíssila Rabelo Tiago Fajardo Póvoa Ada Maria de Barcelos Alves Simone Moraes da Costa Antonio José da Silva Gonçalves Juliana Fernandes Amorim da Silva Adriana de Souza Azevedo Priscilla Conrado Guerra Nunes Carlos Alberto Basílio-de-Oliveira Rodrigo Panno Basílio-de-Oliveira Luiz Henrique Medeiros Geraldo Celina Garcia Fonseca Flávia Regina Souza Lima Ronaldo Mohana-Borges Emiliana Mandarano Silva Flávia Barreto dos Santos Edson Roberto Alves Oliveira Marciano Viana Paes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7271911113</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>44</b>
CARACTERIZAÇÃO DE UM PEPTÍDEO ANTAGONISTA PRODUZIDO POR <i>Bacteroides fragilis</i> ISOLADO DE PÁCIEN­TE COM INFECÇÃO INTRA-ABDOMINAL	
Marcela Nascimento Pinheiro Braga Natália Rocha Guimarães Jamil Silvano Oliveira Simone Gonçalves dos Santos	

Marcelo Porto Bemquerer  
Paula Prazeres Magalhães  
Luiz de Macêdo Farias

**DOI 10.22533/at.ed.7271911114**

**CAPÍTULO 5 ..... 55**

DESENHO VACINAL PARA O ZIKA VÍRUS COM O USO DA IMUNOINFORMÁTICA

Esther Santos Santana  
Fabiano Ricardo Fontes Santos  
Daniela Droppa-Almeida

**DOI 10.22533/at.ed.7271911115**

**CAPÍTULO 6 ..... 68**

ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DE CANDIDEMIA EM PACIENTES SUBMETIDOS À INTERNAÇÃO NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS EM GOIÂNIA - GO

Lucas Daniel Quinteiro de Oliveira  
Maria do Rosário Rodrigues Silva  
Benedito Rodrigues da Silva Neto

**DOI 10.22533/at.ed.7271911116**

**CAPÍTULO 7 ..... 82**

*ENTEROCOCCUS* SP ISOLATED FROM AQUATIC ENVIRONMENT : RESISTANCE TO TOXIC METALS

Luciana Furlaneto-Maia  
Gabriela Batista Gomes Bravo  
Sharise Beatriz Roberto  
Naiara de Oliveira Batista  
Alex Kiyomassa Watanabe  
Márcia Cristina Furlaneto

**DOI 10.22533/at.ed.7271911117**

**CAPÍTULO 8 ..... 98**

ESTUDO DA COMUNIDADE LIQUÊNICA DA UEMG – IBIRITÉ: ANÁLISE MORFOLÓGICA E ECOLÓGICA COMO CARACTERIZAÇÃO DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA

Letícia Maria Soares Azevedo  
Camila Mara dos Reis  
Daniela de Oliveira Costa  
Reisila Simone Migliorini Mendes  
Marisa Cristina da Fonseca Casteluber

**DOI 10.22533/at.ed.7271911118**

**CAPÍTULO 9 ..... 108**

*KLEBSIELLA PNEUMONIAE*: A NOVA AMEAÇA RESISTENTE

Luana Marcela Andrade de Santana  
Nathalia Santos Silva  
Karla Bárbara Calú Barreto  
Dayane dos Santos  
Daniel Guimarães Ribeiro  
Isana Carla Leal Souza

**DOI 10.22533/at.ed.7271911119**

**CAPÍTULO 10 ..... 112**

OCORRÊNCIA DE *FASCIOLA HEPATICA* NA REGIÃO DA CAMPANHA GAUCHA/RS

Brenda Luciana Alves da Silva  
Mikalele Simas Santos  
Marcele Ribeiro Corrêa  
Fernanda Lucero Rodrigues  
Gustavo Freitas Lopes  
Lourdes Caruccio Hirschmann  
Anelise Afonso Martins

**DOI 10.22533/at.ed.72719111110**

**CAPÍTULO 11 ..... 117**

PROPRIEDADES RELACIONADAS À SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DE LINHAGENS DE *Staphylococcus aureus* ISOLADAS DE QUEIJO ARTESANAL

Jéssica Lee de Freitas  
Bianca Aguiar Alves  
Celso Tadeu Barbosa dos Santos  
Alessandra Barbosa Ferreira-Machado  
Aline Dias Paiva

**DOI 10.22533/at.ed.72719111111**

**CAPÍTULO 12 ..... 126**

*Staphylococcus aureus*: UMA VISÃO GERAL DOS MECANISMOS DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA

Glauciane Vieira Damasceno  
Elane Rodrigues Oliveira  
Patrícia Vieira de Oliveira  
Bruno Luis Lima Soares  
Gabrielle Damasceno Evangelista Costa  
Adrielle Zagmignan  
Cristiane Santos Silva e Silva Figueiredo  
Rita de Cássia M. de Miranda  
Luís Cláudio Nascimento da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.72719111112**

**CAPÍTULO 13 ..... 140**

ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETA-LACTAMASE DE ESPECTRO AMPLIADO (ESBL) EM COPROCULTURA DE PACIENTES AMBULATORIAIS

Daniela Cristiane da Cruz Rocha  
Érica Kássia Sousa Vidal  
Karina Lúcia Silva da Silva  
Débora de Castro Costa  
Anderson Nonato do Rosario Marinho

**DOI 10.22533/at.ed.72719111113**

**CAPÍTULO 14 ..... 153**

PERFIL FENOTÍPICO E GENOTÍPICO DE UMA CEPA DE *Escherichia coli* MULTIRRESISTENTE A ANTIBIÓTICOS, ISOLADA DO LAGO ÁGUA PRETA, BELÉM, PARÁ

Ícaro Rainyer Rodrigues de Castro  
Jorianne Thyessa Castro Alves  
Alyne Cristina Sodré Lima  
Vitória Almeida Gonçalves de Moura  
Carla Thais Moreira Paixão  
Wana Lailan Oliveira da Costa  
Adriedson Jameson Chaves de Alcântara  
Carlos Leonardo de Aragão Araújo



Larissa Maranhão Dias  
Artur Luiz da Costa da Silva  
Adriana Ribeiro Carneiro Folador  
DOI 10.22533/at.ed.72719111114

**CAPÍTULO 15 ..... 168**

DESENVOLVIMENTO, PADRONIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE PCR EM TEMPO REAL PARA O DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO DE *PSEUDOCOWPOXVIRUS* – PCPV EM BOVINOS

Érica Eustáquia de Freitas Passos  
Giliane de Souza Trindade  
Antônio Augusto Fonseca Júnior

DOI 10.22533/at.ed.72719111115

**CAPÍTULO 16 ..... 180**

VERIFICAÇÃO DA TEMPERATURA DE DISTRIBUIÇÃO DE REFEIÇÕES QUENTES OFERTADAS EM UMA INSTITUIÇÃO DE LONGA PERMANÊNCIA PARA IDOSOS E A CORRELAÇÃO COM O CRESCIMENTO MICROBIOLÓGICO

Eliane Costa Souza  
Déborah Maria Tenório Braga Cavalcante Pinto  
Ismaell Avelino de Sousa Sobrinho  
Andressa Lima dos Santos  
Julia Dayane de Miranda Vasconcelos Cardoso  
Mirelly Raylla dos Santos  
Mateus Oliveira Santana

DOI 10.22533/at.ed.72719111116

**CAPÍTULO 17 ..... 188**

A DIVERSIDADE DA CLASSIFICAÇÃO DE RNAS NÃO-CODIFICADORES EM BACTÉRIAS

Amanda Carvalho Garcia

DOI 10.22533/at.ed.72719111117

**CAPÍTULO 18 ..... 202**

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FERMENTATIVO DE LEVEDURAS ISOLADAS DE FRUTAS VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DE XILOSE

Rosimeire Oenning da Silva  
Sinésio de Novaes Junior  
Meirielen Nascimento Serpa  
Italo Andrey Souza Inácio Lima  
Raquel Aparecida Loss

DOI 10.22533/at.ed.72719111118

**SOBRE O ORGANIZADOR ..... 214**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 215**

## PERFIL FENOTÍPICO E GENOTÍPICO DE UMA CEPA DE *Escherichia coli* MULTIRRESISTENTE A ANTIBIÓTICOS, ISOLADA DO LAGO ÁGUA PRETA, BELÉM, PARÁ

**Ícaro Rainyer Rodrigues de Castro**

Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA  
Belém – Pará

**Jorianne Thyeska Castro Alves**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
Belém – Pará

**Alyne Cristina Sodré Lima**

Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do  
Amapá  
Porto Grande – Amapá

**Vitória Almeida Gonçalves de Moura**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
Belém – Pará

**Carla Thais Moreira Paixão**

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP  
Campinas – São Paulo

**Wana Lailan Oliveira da Costa**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
Belém – Pará

**Adriedson Jameson Chaves de Alcântara**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
Belém – Pará

**Carlos Leonardo de Aragão Araújo**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
Belém – Pará

**Larissa Maranhão Dias**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
João Pessoa – Paraíba

**Artur Luiz da Costa da Silva**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
Belém – Pará

**Adriana Ribeiro Carneiro Folador**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
Belém – Pará

**RESUMO:** O presente trabalho teve como objetivo caracterizar o perfil fenotípico e genotípico de uma cepa de bactéria resistente a antibióticos de último recurso, isolada do lago Água Preta, manancial de abastecimento de Belém, Pará. Como métodos de caracterização fenotípica foram utilizados a coloração de Gram, microscopia direta e teste de sensibilidade *in vitro*. E para fins de caracterização genotípica foi realizada a extração do DNA genômico, diferenciação da espécie por meio de PCR Quadruplex e PCR para identificação de genes de resistência. A cepa C40A foi identificada como *Escherichia coli* pertencente ao filogruppo D. A bactéria foi resistente a 87,5% dos antibióticos clinicamente disponíveis para o tratamento de infecções bacterianas e susceptíveis a apenas 12,5% dos mesmos (Imipenem e Canamicina). Foi identificada a presença do gene *bla*CTX e dos elementos móveis *Int1* e *Int2*, sendo estes componentes genéticos, marcadamente associados a expressão de perfis de resistência a antibióticos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Genética molecular, Microbiologia e Resistência

PHENOTYPIC AND GENOTYPIC PROFILE OF AN *Escherichia coli* STRAIN  
MULTIRESISTENT TO ANTIBIOTICS, ISOLATED FROM ÁGUA PRETA LAKE,  
BELÉM, PARÁ

**ABSTRACT:** The present work aimed to describe the phenotypic and genotypic profile of a bacterium strain resistant to last resort antibiotic, isolated from the Água Preta lake, water supply source in Belém, Pará. The phenotypic characterization methods were Gram staining, direct microscopy and *in vitro* sensitivity test. For genotypic characterization purposes, genomic DNA extraction, species differentiation through Quadruplex PCR and PCR for identification of resistance genes were performed. The C40A strain was identified as an *Escherichia coli* belonging to filogroup D. The bacterium was resistant to 87.5% of the clinically available antibiotics for the treatment of bacterial infections and susceptible to only 12.5% (Imipenem and Kanamycin). The presence of the *bla*CTX gene and the mobile elements *Int1* and *Int2* were identified. These genetic components were markedly associated with the expression of antibiotic resistance profiles.

**KEYWORDS:** Molecular Genetics, Microbiology and Resistance

## 1 | INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos são substâncias naturais, químicas, sintéticas ou semissintéticas (quimioterápicos), produzidas por várias espécies de microrganismos, vegetais e animais (OKEKE et al., 2005) Encontram-se dentro do grupo de substâncias antimicrobianas, que atualmente representam a classe de medicamentos mais utilizados e prescritos tanto no uso hospitalar quanto na automedicação para o tratamento de doenças bacterianas (WALSH, 2013).

Os antibióticos são rotineiramente utilizados para combater uma infecção estabelecida e possuem a finalidade de eliminar ou impedir o crescimento bacteriano, no entanto, quando usados de forma incorreta trazem sérios problemas à saúde pública e ao meio ambiente (NICOLINI et al., 2008). Segundo Lohner & Staudegger (2001), as doenças infecciosas estão entre as principais causas de morte da população humana devido ao surgimento de bactérias multirresistentes aos antibióticos, causada pela utilização excessiva e errônea praticada ao longo de décadas (INSA, 2010).

Este uso indiscriminado permitiu que os microrganismos conseguissem se adaptar, por meio de mecanismos de aquisição e transferência de genes de resistência (CDC, 2010). Adaptação esta que contribuiu para a emergência e incidência de bactérias patogênicas e resistentes aos antibióticos não apenas em ambiente hospitalar, mas também no meio ambiente e em animais produtores de alimentos, representando assim, uma grave preocupação e ameaça à saúde pública (FORGETTA et al., 2012).

As bactérias têm sido classificadas como resistentes ou multirresistentes quando são inibidas de forma *in vitro* por antibióticos apenas em concentrações superiores àquelas atingidas de maneira *in vivo* (SA; FIOL; GROppo, 2014), quando esta possui a capacidade de crescer na presença de um ou de várias classes de antibióticos, respectivamente, sinalizando assim, o momento em que este ou estes medicamentos perderam a capacidade de controlar o crescimento bacteriano (SEAN, 2005).

A água é um meio de disseminação de organismos resistentes aos antibióticos entre populações humanas e animal, mas também a via pela qual genes de resistência são introduzidos no ecossistema de bactérias naturais alterando a microbiota ambiental, possibilitando assim, o surgimento de cepas multirresistentes nesses ambientes. Dessa forma, os ambientes aquáticos são considerados os principais recipientes para cepas resistentes e genes de resistência à antibióticos (GILLINGS; STOKES, 2012).

Nesse contexto, o presente trabalho foi conduzido objetivando a caracterização fenotípica e genotípica de cepas de bactérias, bem como a identificação dos genes responsáveis pela resistência.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização das análises de caracterização fenotípica e genotípica foi selecionada a cepa C40A, por se tratar de uma cepa previamente identificada como resistente ao antibiótico Cefotaxima e com potencial patogênico a animais de produção. A mesma foi selecionada a partir da bacterioteca disponível do acervo Centro de Genômica e Biologia de Sistemas – CBGS/UFPA, isolada em estudo anterior do lago Água Preta, localizado no Parque Utinga pertencente à COSANPA, considerado como principal reservatório que serve como fonte de abastecimento da cidade de Belém, Pará.

A cepa foi cultivada em meio caldo MacConkey por 24 horas à 37°C, e posteriormente, semeada em meio ágar MacConkey suplementado com 8µg/ml de antibiótico Cefotaxima.

A fim de destacar diferenças morfológicas e tintoriais apresentadas pelas bactérias no processo de identificação, foi utilizada a técnica de coloração de Gram que permite dividir as bactérias em dois grandes grupos: Gram-positivas e Gram-negativas. O método consiste em tratar sucessivamente um esfregaço bacteriano, fixado pelo calor, com os reagentes cristal violeta, lugol, álcool-acetona e fucsina por determinados intervalos de tempo. As bactérias que adquirem coloração violeta são classificadas como Gram-positivas e aquelas que adquirem a coloração rosa Gram-negativas.

Realizada conseguinte à coloração de Gram, a técnica de microscopia direta disponibiliza informações quanto à composição celular, morfologia e motilidade

do microrganismo. As amostras foram observadas por microscópio óptico de luz direta o qual destacou as características morfológicas, a disposição e a quantidade de microrganismos, dando informações preliminares quanto à identificação do microrganismo.

O antibiograma foi realizado por meio da técnica de difusão em disco (método de Kirby & Bauer). A cepa isolada foi diluída em solução salina até o valor de 0,5 da escala de MacFarland, posteriormente, esta diluição foi semeada em placa com meio de cultura ágar Müeller-Hinton com auxílio de um *swab* estéril. Posterior a isso, os discos dos 16 antibióticos utilizados foram aplicados sob a superfície da placa (Quadro 2), este processo foi realizado duas vezes a fim de confirmar os resultados obtidos. Após 16 horas ou período de *overnight*, de incubação à 37°C em estufa, foi realizada a leitura dos halos de inibição segundo os valores padronizados pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI*. E como controle, foi utilizada a linhagem *E. coli* ATCC 25922.

Subclasses	Antibióticos
Aminoglicosídeos	Gentamicina (CN) e Canamicina (K)
Carbapenêmicos	Imipenem (IPM)
Cefalosporinas	Ceftazidima (CAZ), Cefotaxima (CTX), Cefepima (FEP), Cefalotina (KPF)
Fenicolis	Cloranfenicol (C)
Inibidor de $\beta$ -lactamase	Amoxicilina + Ácido Clavulânico (AMC)
Monobactâmicos	Aztreonam (ATM)
Penicilinas	Amoxicilina (AML) e Ampicilina (AMP)
Quinolonas	Ácido Nalidixico (NA) e Ciprofloxacina (CIP)
Sulfonamidas	Sulfametoxazol + Trimetoprim (SXT)
Tetraciclinas	Tetraciclina (TE)

Quadro 2: Antibióticos utilizados no teste de susceptibilidade

Fonte: O autor.

As colônias da cepa C40A inicialmente isoladas em meio sólido, foram cultivadas em meio trípico de soja (caldo TSB) com agitação a 37°C por 24h, e o *pellet* foi transferido para tubos *ependorf*, onde ocorreu a extração do DNA genômico utilizando o kit DNeasy Blood and Tissue (Qiagen), segundo o protocolo especificado pelo fabricante. A quantificação do DNA extraído foi realizada utilizando espectrofotômetro NanoDrop e a qualidade do DNA extraído foi avaliada em gel de agarose 1% e corado com brometo de etídio.

Por meio da técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) Quadruplex utilizando como alvo os genes *arpA*, *chuA*, *yjaA* e o fragmento de DNA TspE4.C2, caracterizado como um gene de lipase esterase putativo (GORDON et al., 2008).

Para a realização da PCR para identificar os genes de resistência, foi utilizado os *primers* dos genes: *blaIMP*, *blaVIM*, *blaKPC*, *blaSHV*, *blaCTX* e *blaTEM* (BÖCKELMANN et al., 2009; HENRIQUES et al., 2006; HINDIYEH et al., 2011). E a identificação dos *integrans* *Int1* e *Int2* também foi realizada utilizando *primers* previamente descritos na literatura (MOURA et al., 2010).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O material biológico obtido a partir do Lago Água Preta e mantido em glicerol 25% em freezer à  $-80^{\circ}\text{C}$  foi cultivado em placas de ágar MacConkey, meio este, seletivo para crescimento de enterobactérias. Após 24h de incubação à  $37^{\circ}$ , foi observado crescimento da cepa C40A de forma pura, sem a presença de qualquer contaminante ambiental ou laboratorial (Figura 4).



Figura 4: Crescimento bacteriano em meio seletivo

Fonte: Arquivo pessoal

A partir da coloração de Gram, a bactéria foi identificada como gram-negativa, apresentando-se na configuração de bacilos (Figura 5).



Figura 5: Microscopia direta de bactérias submetidas à coloração de Gram

Fonte: Arquivo pessoal

Com base nos resultados obtidos a partir das propriedades morfotintoriais, pode-se classificar preliminarmente a bactéria como sendo da família Enterobacteriaceae, devido a mesma ter manifestado características descritas na literatura.

A família Enterobacteriaceae constitui um grande grupo heterogêneo de bactérias cujo hábitat natural é o trato intestinal de humanos e animais. A família inclui numerosos gêneros (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* e outros). O processo de diferenciação dos gêneros e espécies é realizado por meio de uma série de provas bioquímicas. Algumas espécies, em um mesmo gênero, são muito semelhantes, sendo necessária a realização de provas genéticas específicas para diferencia-las (TRABULSI, 2015).

No Brasil já foram identificadas bactérias resistentes aos antibióticos em água de rio (COUTINHO et al., 2014), lago e lagoa (COUTINHO et al., 2014; MARTINS et al., 2014), e do mar (COUTINHO et al., 2014)

Também já foram identificadas bactérias resistentes em estações de tratamento de esgotos (RIBEIRO, 2011), em água de tanques usados para aquicultura (CARVALHO et al., 2013; RESENDE et al., 2012) e até mesmo em água potável (LASCOWSKI et al., 2013). Esse cenário se torna mais preocupante uma vez que em algumas regiões brasileiras o uso da água apresenta certas limitações em decorrência da sua escassez, más condições de tratamento, contaminação por efluentes domésticos, industriais e/ou agropecuários contendo resíduos de antibióticos (MARENGO, 2008).

Para o teste de disco-difusão, foram utilizados 16 antibióticos clinicamente utilizados para o tratamento de infecções bacterianas, pertencentes a diversas subclasses deste tipo de fármaco disponíveis para o tratamento de infecções. A partir destes, foi analisada a capacidade de impedir o crescimento microbiano por meio da medida do halo formado ao redor do disco de antibiótico (Figura 6). Os resultados foram interpretados de acordo com os valores estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI*, utilizando como controle do teste a cepa padrão de *E. coli* (ATCC 25922), cujas variações aceitáveis para as medidas dos halos de inibição encontram-se estabelecidas no CLSI.

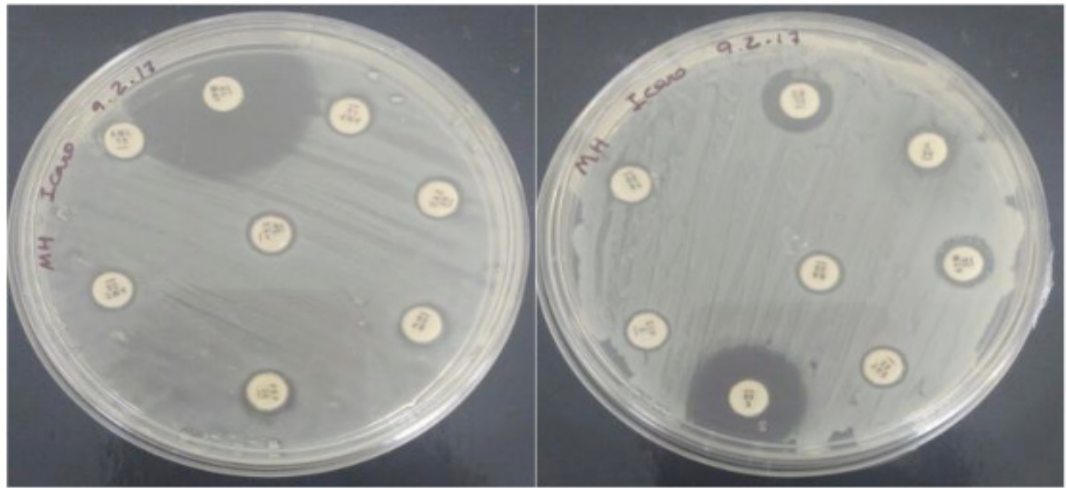


Figura 6: Resposta do crescimento bacteriano em relação a presença de antibióticos

Fonte: Arquivo pessoal

As respostas de crescimento ou inibição na presença dos antibióticos foram classificadas como: Resistente (R), Intermediário (I) ou Sensível (S). Podendo-se observar que dos 16 antibióticos utilizados, a cepa C40A apresentou susceptibilidade a 12,5% dos antibióticos IMP e K, pertencentes às subclasses carbapenêmicos e aminoglicosídeos, respectivamente e apresentou resistência a 87,5% dos antibióticos testados AML, AMC, AMP, CAZ, KPF, CTX, FEP, CIP, CN, C, STX, ATM, NA e TE, pertencentes às demais subclasses utilizadas no presente estudo (Quadro 3 e 4).

Antibiótico	Diâmetro do halo de inibição (mm)			Padrão observado	Diagnóstico
	Padrão CLSI				
	R	I	S		
Imipenem	≤ 13	14-15	≥ 16	34	S
Canamicina	≤ 13	14-17	≥ 18	20	S
Gentamicina	≤ 12	13-14	≥ 15	12	R
Aztreonam	≤ 15	16-21	≥ 22	10	R
Demais antibióticos	≤ R	-	-	-	-

Quadro 3: Resultados observados do halo de inibição do teste de antibiograma

Fonte: O autor.



Data do ensaio:14/02/2017								
Antibióticos								
Colônia	AML	AMC	AMP	CAZ	KPF	CTX	FEP	IPM
<i>E. coli</i> ATCC 25922	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
C40A	R	R	R	R	R	R	R	S
Antibióticos								
Colônia	CIP	CN	C	STX	K	ATM	NA	TE
<i>E. coli</i> ATCC 25922	OK	-	OK	OK	OK	OK	OK	OK

Quadro 4: Resultado do teste de antibiograma  
( - ) Ausência de padrão de controle qualidade. Fonte: O autor.

Vasconcelos et al. (2010) em estudo caracterizou a resistência antimicrobiana de cepas de *E. coli* isoladas do açude Santo Anastácio (Fortaleza, CE), constatou que as cepas analisadas apresentaram resistência à tetraciclina, ácido nalidixico, ciprofloxacina e ao sulfazotrin. E em desacordo com o presente trabalho, nenhuma resistência foi observada aos antibióticos do grupo dos  $\beta$ -lactâmicos (Imipenem).

Li et al. (2016) observaram em seu estudo que todos os isolados de *E. coli* coletados em quatro distritos diferentes da China possuíam perfil de multirresistência, mostrando-se resistentes a cefotaxima, cefepima, aztreonam, ceftazidima, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina, ampicilina-sulbactama e piperacilina-tazobactam. Destaca-se que alguns desses isolados também eram resistentes a tetraciclina, sulfametoxazol/trimetoprim, ciprofloxacina, gentamicina e amicacina. No entanto, foi observado que todos os isolados foram susceptíveis ao imipenem, confirmando os resultados obtidos no presente estudo.

Os resultados do presente estudo também são semelhantes aos apresentados em estudo conduzido por Gharout-Sait et al. (2015) na Argélia, onde todos os isolados apresentaram resistência à amoxicilina/ácido clavulânico, cefotaxima, ceftazidima, aztreonam e cefoxitina. A resistência dos isolados foi alta para os antibióticos sulfametoxazol/trimetoprim, tetraciclina, clorafenicol e trimetoprim. E baixa para ácido nalidixico e amicacina. Os isolados demonstraram-se suscetíveis a imipenem e antibióticos da subclasse das fluoroquinolonas.

Um estudo desenvolvido em Portugal por Machado et al. (2008) descreveu a presença de *integrons* e de vários genes de resistência (como codificadores de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido) em amostras identificadas como sendo Enterobacteriaceae, provenientes de frangos e suínos. Os resultados deste estudo mostraram que vários isolados produtores de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido eram resistentes a antibióticos usados na produção animal intensiva. Foi possível ainda, concluir que as resistências estavam associadas a estirpes de *E. coli* comensais de origem animal. Foi aferido que os animais, como as aves e suínos, podem ser potenciais reservatórios de bactérias e genes de resistência a antibióticos. Essas bactérias comensais e patogênicas (incluindo estirpes resistentes) podem

chegar ao ambiente através dos esgotos e contaminar cursos d'água subterrâneos e superficiais, desencadeando um problema ambiental.

Em estudo de larga escala realizado em 1427 bovinos na França revelou prevalência de 0,4% de *E. coli* produtoras de ESBL na mastite bovina. Essa prevalência pode ter sido oriunda do tratamento com antibióticos nos tetos dos animais, que geralmente é local e altamente administrado, e/ou ao fato de que a glândula mamária geralmente é estéril e não é um nicho ecológico favorável para troca genética e seleção de resistência entre cepas (DAHMEN et al., 2013).

Walk et al., (2009) relataram que várias novas linhagens de *Escherichia* são geneticamente distintas, mas fenotípica indistinguíveis. Devido a essa alta similaridade presente entre as bactérias pertencentes a esse gênero, a técnica de PCR Quadruplex foi empregada a fim de confirmar a identidade da cepa bacteriana no presente estudo.

O método pressupõe que apenas isolado com um fenótipo típico de *Escherichia* (por exemplo, lactose +, citrato -, indol +) serão rastreados, isto é, isolados pertencentes a *E. coli* ou a qualquer um dos cinco grupos crípticos de *Escherichia* (WALK et al., 2009).

Como resultado, a cepa C40A amplificou os genes *arpA* e *chuA*, e foi negativa para a amplificação dos genes *yjaA* e TspE4.C2 (Figura 8).

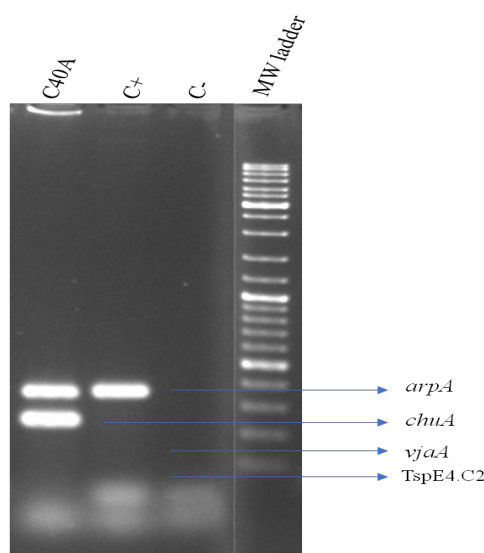


Figura 5: Amplificação de fragmento de *E. coli*, controle positivo e negativo em PCR

Fonte: ARAÚJO, S. (2017).

Pode-se concluir que a cepa C40A trata-se realmente de um exemplar de *E. coli*, com base nos parâmetros de diferenciação de bactérias do gênero *Escherichia* estabelecidos por Clermont et al., (2013).

Ainda com base nos obtidos e seguindo recomendação de (CLERMONT et al., 2013) C40A pode ser enquadrada dentro dos filogrupos D ou E, por apresentar *arpA*<sup>+</sup> e *chuA*<sup>+</sup>, conforme padrão estabelecido pelos mesmos autores (Figura 9), contudo, microrganismos pertencentes ao filogrupo E são unicamente oriundos de isolados clínicos humanos, enquanto os pertencentes ao filogrupo D são isolados de origem ambiental, tidos como virulentos e potenciais causadores de patologias.

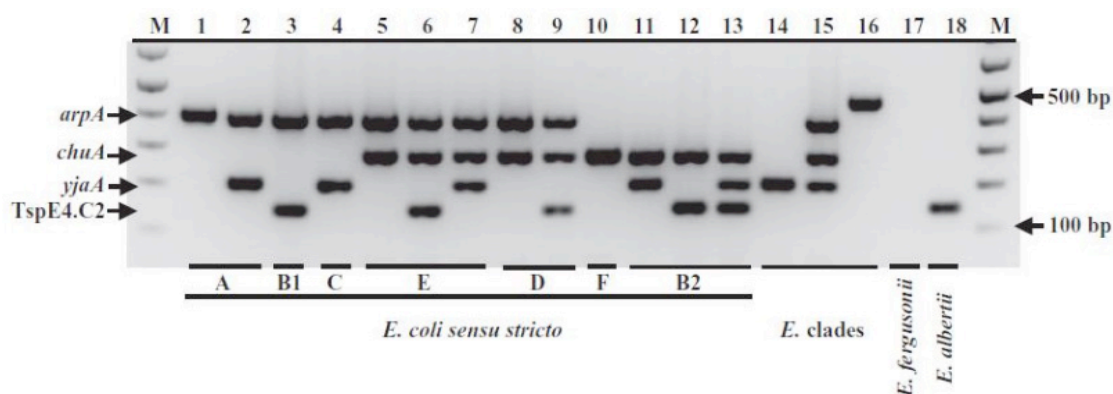


Figura 6: Padrões de classificação de bactérias do gênero *Escherichia* e seus filogrupos.

Fonte: CLERMONT et al., (2013)

Meireles (2013) levando em consideração unicamente os filogrupos que possuíam isolados de origem ambiental, desenvolveu método alternativo de classificação das espécies bacterianas dentro de seus respectivos filogrupos, também de acordo com o padrão de amplificação de três genes marcadores específicos (*arpA*, *chuA*, *yjaA*) e um fragmento de DNA TSPE4.C2.

Desta forma, confirmando os resultados apresentados pelo estudo de Clermont et al. (2013), devido ao fato do presente isolado se tratar de um isolado de origem ambiental, sendo o mesmo foi classificado e confirmado por ambos os métodos de classificação como sendo pertencente ao grupo filogenético D.

Estudo realizado por Clermont, Bonacorsi e Bingen (2000), aponta que os grupos filogenéticos B2 e D são isolados principalmente a partir de infecções extra-intestinais e são principalmente constituídos por cepas invasivas. Em estudos tendo como objeto os grupos filogenéticos foram publicados em outros países Irã (GHANBARPOUR; OSWALD, 2010), Israel (BLUM; LEITNER, 2013) Finlândia (SUOJALA et al., 2011), e esses achados sustentam o papel da *E. coli* do filogrupo D e de ocorrência ambiental como principal agente etiológico de mastite em bovinos.

Em pesquisa realizada por Casella (2016), o grupo filogenético D, por vezes considerado como virulento e causador de infecções extra-intestinais, predominou dentre as linhagens de *E. coli* oriundas tanto de carnes quanto do trato gastrointestinal (TGI) de frangos do Brasil.

A identificação dos genes de resistência à  $\beta$ -lactâmicos foi realizada por técnica de PCR com os primers: *bla*TEM, *bla*IAMP, *bla*SHV, *bla*CTX, *bla*VIM e *bla*KPC.

Além dos genes, buscou-se identificar os *integrons Int1* e *Int2* (Quadro 5).

Primers	Gene alvo	Sequência (5' - 3')	Temperatura anelamento (°C)	Tamanho amplificado (pb)
TEM_F TEM_R	<i>bla</i> TEM	AAAGATGCTGAAGATCA TTTGGTATGGCTTCATTC	44	425
SHV_F SHV_R	<i>bla</i> SHV	GCGAAAGCCAGCTGTCGGGC GATTGGCGGCGCTGTTATCGC	62	304
CTX_F CTX_R	<i>bla</i> CTX	GTGCAGTACCAGTAAAGTTATGG CGCAATATCATTGGTGGTGCC	55	538
IMP_F IMP_R	<i>bla</i> IMP	GAATAGAGTGGATTAATTCTC GGTTTAAAYAAAACAACCACC	55	232
VIM_F VIM_R	<i>bla</i> VIM	GATGGTGTGGTTCGCATATCG GCCACGTTCCCCGCAGACG	58	475
KPC_F KPC_R	<i>bla</i> KPC	GATACCACGTTCCGTCTGG GCAGGTTCCGGTTTTGTCTC	62	246
Int1_F Int1_R	Integrase Classe 1	CCTCCCGCACGATGATC TCCACGCATCGTCAGGC	55	280
Int2_F Int2_R	Integrase Classe 2	TTATTGCTGGGATTAGGC ACGGCTACCCTCTGTTATC	50	233

Quadro 5: Primers utilizados na identificação dos genes *bla*TEM, *bla*SHV, *bla*CTX, *bla*IMP, *bla*VIM, *Int1* e *Int2*.

Fonte: Adaptado HENRIQUES et al., 2006 et al., 2011..

Os resultados da PCR foram avaliados em gel de agarose (1%) corado com brometo de etídio e visualizados por meio de eletroforese sob luz UV.

A cepa de *E. coli* apresentou resultado positivo quanto à amplificação dos genes *bla*CTX e os *integrons Int1* e *Int2*, confirmando assim, a presença desses genes e elementos móveis em seu genoma. Entretanto, a espécie mostrou-se negativa quanto à amplificação dos genes *bla*TEM, *bla*IMP, *bla*SHV, *bla*VIM e *bla*KPC (Quadro 6).

<i>bla</i> TEM	<i>bla</i> IMP	<i>bla</i> SHV	<i>bla</i> CTX	<i>bla</i> VIM	<i>bla</i> KPC	<i>Int1</i>	<i>Int2</i>
-	-	-	+	-	-	+	+

Quadro 6: Resultado PCR dos primers de genes de resistência.

Fonte: O autor.

Kotlarska et al. (2015) analisando o perfil de resistência de *E. coli* isolada de duas estações de tratamento de águas residuais e suas águas receptoras na Polônia, identificou a presença de *integrons* de classe 1 e 2 entre os isolados de *E. coli* testados com taxa de 32,06% e 3,05%, respectivamente. A presença de *integrons* foi associada ao aumento da frequência de resistência a fluoroquinolonas, trimetoprim/sulfametoxazol, amoxicilina/clavulanato, piperacilina/tazobactam e presença de fenótipo de multirresistência. Os resultados obtidos neste estudo corroboraram com os apresentados pelos autores supracitados, contudo, o aumento da frequência de resistência não foi possível de ser mensurado para os mesmos antibióticos testados

no estudo de Kotlarska e colaboradores.

Em estudo realizado por Canal (2010) em *E. coli* isolada de amostras de água da Lagoa dos Patos (RS) observou uma associação significativa entre a multirresistência aos antibióticos e a presença de *integrons* de classe 1 nas amostras analisadas, onde a maioria dos isolados (67,7%) que apresentaram o *Int1* em sua composição genética foram considerados multirresistentes, estando este estudo em concordância com trabalho apresentado por Henriques et al. (2006) e podendo-se inferir que em concordância com os achados no presente estudo.

Casella (2016) objetivando a identificação de genes de resistências cefalosporinas de espectro estendido (ESC) mediada pela produção de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBL) em *E. coli* isolada partir de carne de frango no Brasil e na França, identificou que o gene *blaCTX* foi o principal responsável pela resistência dos isolados a ESC, mas os genes *blaTEM* e *blaSHV* também foram detectados. Estando a maioria dos genes *blaCTX* associados à *integrons* complexos de classe 1, resultado que pode ser considerado como similar ao apresentado no presente estudo.

Cupertino (2016) em estudo realizado com isolados de *E. coli* provenientes de animais de produção identificou que 20% do total de isolados apresentou pelo menos um gene de resistência. Sendo, 1% dos isolados positivos para o gene *blaSHV*, 5% positivos para o gene *blaCTX* e 9% positivos para o gene *blaTEM*. Além dos resultados acima descritos 2% isolados apresentaram resultado positivo frente a dois genes simultaneamente: *blaCTX* e *blaTEM*. O que diferiu do apresentado neste trabalho, uma vez que a cepa em estudo amplificou unicamente o gene *blaCTX*.

## 4 | CONCLUSÕES

A cepa C40A foi identificada como sendo uma bactéria da espécie *E. coli* e revelou altos níveis de resistência à maioria dos antimicrobianos clinicamente disponíveis para o tratamento de infecções bacterianas, exceto para Imipenem e Canamicina. A cepa classificada como pertencente ao filogruppo D. Foi detectada a presença do gene *blaCTX* e dos elementos móveis *Int1* e *Int2*.

## REFERÊNCIAS

BLUM, S. E.; LEITNER, G. Genotyping and virulence factors assessment of bovine mastitis *Escherichia coli*. **Veterinary Microbiology**, v. 163, n. 3–4, p. 305–312, 2013.

BÖCKELMANN, U. et al. Quantitative PCR monitoring of antibiotic resistance genes and bacterial pathogens in three european artificial groundwater recharge systems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 1, p. 154–163, 2009.

CANAL, N. **Caracterização de resistência a antimicrobianos e diversidade genética em *Escherichia coli* isolada de amostras de água da Lagoa dos Patos , RS.** [s.l.] Universidade

Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

CARVALHO, F. C. T. et al. Antibiotic Resistance of *Salmonella* spp. Isolated from Shrimp Farming Freshwater Environment in Northeast Region of Brazil. **Journal of Pathogens**, v. 2013, p. 1–5, 2013.

CASELLA, T. **Caracterização molecular de genes de resistência a cefalosporinas de espectro estendido em *Escherichia coli* isoladas de frango e carnes de frango.** [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho, 2016.

CDC. **About Antimicrobial Resistance: A Brief overview.**

CLERMONT, O. et al. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylo-groups. **Environmental Microbiology Reports**, v. 5, n. 1, p. 58–65, 2013.

CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 10, p. 4555–4558, 2000.

COUTINHO, F. H. et al. Antibiotic Resistance is Widespread in Urban Aquatic Environments of Rio de Janeiro, Brazil. **Microbial Ecology**, v. 68, n. 3, p. 441–452, 2014.

CUPERTINO, V. M. L. **Prevalência de genes de resistência em isolados de *Escherichia coli* provenientes de animais de produção.** Porto Alegre: [s.n.].

DAHMEN, S. et al. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-carrying plasmids and clones of Enterobacteriaceae causing cattle mastitis in France. **Veterinary Microbiology**, v. 162, n. 2–4, p. 793–799, 2013.

FORGETTA, V. et al. Pathogenic and multidrug-resistant *Escherichia fergusonii* from broiler chicken. **Poult Sci**, v. 91, n. 2, p. 512–525, 2012.

GHANBARPOUR, R.; OSWALD, E. Phylogenetic distribution of virulence genes in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis in Iran. **Research in Veterinary Science**, v. 88, n. 1, p. 6–10, 2010.

GHAROUT-SAIT, A. et al. Molecular characterization and epidemiology of cefoxitin resistance among Enterobacteriaceae lacking inducible chromosomal ampC genes from hospitalized and non-hospitalized patients in Algeria: Description of new sequence type in *Klebsiella pneumoniae* iso. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, n. 2, p. 187–195, 2015.

GILLINGS, M. R.; STOKES, H. W. Are humans increasing bacterial evolvability? **Trends in Ecology and Evolution**, v. 27, n. 6, p. 346–352, 2012.

GORDON, D. M. et al. Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: Multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. **Environmental Microbiology**, v. 10, n. 10, p. 2484–2496, 2008.

HENRIQUES, I. S. et al. Occurrence and diversity of integrons and  $\beta$ -lactamase genes among ampicillin-resistant isolates from estuarine waters. **Research in Microbiology**, v. 157, n. 10, p. 938–947, 2006.

HINDIYEH, M. et al. Rapid detection of blaKPC carbapenemase genes by internally controlled real-time PCR assay using bactec blood culture bottles. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 7, p. 2480–2484, 2011.

INSA. **Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos.**

- KOTLARSKA, E. et al. Antibiotic resistance and prevalence of class 1 and 2 integrons in *Escherichia coli* isolated from two wastewater treatment plants, and their receiving waters (Gulf of Gdansk, Baltic Sea, Poland). **Environmental science and pollution research international**, v. 22, n. 3, p. 2018–2030, 2015.
- LASCOWSKI, K. M. S. et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in drinking water supplies of north Paraná State, Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 4, p. 1230–1239, 2013.
- LI, S. et al. Prevalence and Antibiotic Resistance Profiles of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase–Producing *Escherichia coli* Isolated from Healthy Broilers in Shandong Province, China. **Journal of Food Protection**, v. 79, n. 7, p. 1169–1173, 2016.
- LOHNER, K. .; STAUDEGGER, E. Are we on the threshold of the post-antibiotic era? In: **Development of novel antimicrobial agents: Emerging strategies**. England: Horizon Scientific Press, 2001. p. 1–15.
- MACHADO, E. et al. Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases among Enterobacteriaceae isolates recovered from chickens and swine in Portugal. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, n. May, p. 296–302, 2008.
- MARENGO, J. A. Água E Mudanças Climaticass. **Estudos Avançados**, v. 22, n. 63, p. 83–96, 2008.
- MARTINS, V. V. et al. Aquatic environments polluted with antibiotics and heavy metals: A human health hazard. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 9, p. 5873–5878, 2014.
- MEIRELES, D. M. F. DE. Caracterização molecular da resistência a antimicrobianos em *Escherichia coli* produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro alargado isoladas em cães e estudo da partilha de clones bacterianos entre animais de companhia e coabitantes humanos. 2013.
- MOURA, A. et al. Wastewater bacterial communities bring together broad-host range plasmids, integrons and a wide diversity of uncharacterized gene cassettes. **Research in Microbiology**, v. 161, n. 1, p. 58–66, 2010.
- NICOLINI, P. et al. Fatores relacionados à prescrição médica de antibióticos em farmácia pública da região Oeste da cidade de São Paulo TT - Factors related to prescriptions of antibiotics in a public pharmacy in the Western region of the city of São Paulo. **Ciênc. saúde coletiva**, v. 13, n. supl, p. 689–696, 2008.
- OKEKE, I. N. et al. Antimicrobial resistance in developing countries. Part II: Strategies for containment. **Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 9, p. 568–580, 2005.
- RESENDE, J. A. et al. Multidrug-resistance and toxic metal tolerance of medically important bacteria isolated from an aquaculture system. **Microbes and environments / JSME**, v. 27, n. 4, p. 449–55, 2012.
- RIBEIRO, R. V. Avaliação de sistema de cultivo integrado, a partir da reciclagem de águas residuais submetidas a tratamento primário: pesquisa de espécies dos gêneros *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* e *Aeromonas*. p. 91, 2011.
- SA, F.; FIOL, D.; GROPPPO, F. C. Resistência Bacteriana. n. January 2000, 2014.
- SEAN, S. K. **Antibiotic Resistance: New Approaches to a Historical Problem, Action Bioscience**.
- SUOJALA, L. et al. Phylogeny, virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated in clinical bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 147, n. 3–4, p. 383–388, 2011.

TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2015.

VASCONCELOS, F. R. et al. Perfil De Resistência Antimicrobiana De Escherichia Coli Isoladas Do Açude Santo Anastacio, Ceará, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 405–410, 2010.

WALK, S. T. et al. Cryptic lineages of the genus Escherichia. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 20, p. 6534–6544, 2009.

WALSH, C. **Antibiotics: Actions, Origins, Resistance**. Washington: ASM Press, 2013.



## **SOBRE O ORGANIZADOR**

**BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO** - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia (Universidade Candido Mendes - RJ). Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática (2014). O segundo Pós doutoramento foi realizado pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com o projeto Análise Global da Genômica Funcional do Fungo *Trichoderma Harzianum* e período de aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Seu terceiro Pós-Doutorado foi concluído em 2018 na linha de bioinformática aplicada à descoberta de novos agentes antifúngicos para fungos patogênicos de interesse médico. Palestrante internacional com experiência nas áreas de Genética e Biologia Molecular aplicada à Microbiologia, atuando principalmente com os seguintes temas: Micologia Médica, Biotecnologia, Bioinformática Estrutural e Funcional, Proteômica, Bioquímica, interação Patógeno-Hospedeiro. Sócio fundador da Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente, desde 2016, no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Atuou como Professor Doutor de Tutoria e Habilidades Profissionais da Faculdade de Medicina Alfredo Nasser (FAMED-UNIFAN); Microbiologia, Biotecnologia, Fisiologia Humana, Biologia Celular, Biologia Molecular, Micologia e Bacteriologia nos cursos de Biomedicina, Fisioterapia e Enfermagem na Sociedade Goiana de Educação e Cultura (Faculdade Padrão). Professor substituto de Microbiologia/Micologia junto ao Departamento de Microbiologia, Parasitologia, Imunologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e Coordenador do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Atualmente o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais. Contato: dr.neto@ufg.br ou neto@doctor.com

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Alimentos 13, 119, 120, 124, 154, 180, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 212

Allium sativum 14, 15, 16, 19, 20, 21

Análise 4, 12, 13, 21, 58, 59, 65, 68, 76, 80, 98, 99, 102, 105, 106, 107, 114, 116, 120, 143, 150, 168, 170, 173, 174, 175, 176, 177, 187, 189, 212, 214

Antibiograma 117, 118, 121, 122, 123, 149, 156, 159, 160

Antibióticos 14, 16, 19, 20, 97, 108, 110, 119, 124, 125, 128, 129, 130, 132, 133, 141, 142, 146, 149, 150, 151, 153, 154, 155, 156, 158, 159, 160, 161, 163, 164, 166, 197

### B

Bactérias 1, 4, 5, 7, 8, 14, 16, 17, 18, 19, 108, 109, 110, 111, 118, 119, 120, 121, 123, 124, 130, 132, 141, 142, 144, 148, 154, 155, 157, 158, 160, 161, 162, 180, 184, 185, 186, 188, 195, 198, 212

Bacteroides 44, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 125

Biofilme 71, 118, 122, 124, 125, 127, 131, 132, 133, 134

Bioindicador 7, 8, 98, 107

Bioinformática 55, 57, 65, 214

Bovinos 112, 113, 114, 116, 161, 162, 168, 169, 178

### C

Candida 68, 69, 70, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81

Candidemia 68, 69, 74, 75, 76, 77, 80, 81

Carbapenêmicos 108, 109, 149, 159

Cloranfenicol 14, 16, 17, 18

Contaminação biológica 1

### D

Dengue 23, 24, 25, 28, 29, 30, 31, 35, 36, 37, 38, 57

Diagnóstico molecular diferencial 168

### E

Enterococcus 8, 82, 83, 85, 86, 90, 91, 92, 93, 96, 97, 117, 118, 122

Epidemiologia 53, 68, 80, 152

Epítomos imunodominantes 55, 57, 59, 61, 64

Escherichia coli 1, 2, 4, 8, 12, 14, 15, 16, 19, 20, 46, 61, 77, 97, 109, 122, 140, 141, 143, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 164, 165, 166, 198, 199, 200, 201, 212

### F

Fasciolose 112, 113, 116

## **G**

Genética molecular 153

## **I**

Infecção 23, 45, 56, 57, 68, 70, 71, 72, 75, 76, 78, 80, 108, 111, 115, 126, 127, 128, 131, 132, 133, 142, 149, 154, 169, 174

Infecção intra-abdominal 45

## **L**

Laboratórios 1, 3, 9, 11, 16, 174, 178

Líquên 98, 100, 102, 107

## **M**

Microbiologia 44, 55, 68, 76, 82, 102, 107, 117, 120, 125, 151, 152, 153, 167, 187, 204, 214

Microrganismos patogênicos 1, 2, 11, 12

Modelo murino 23

## **O**

Oportunista 68, 70, 126, 127

## **P**

Parabacteroides 44, 45, 46, 47

Peptídeos 44, 55, 57, 59, 122, 124, 131, 132

Poluição 98, 99, 100, 101, 103, 104, 105, 106

Proteínas recombinantes 55, 64, 65

Pseudocowpoxvirus 168, 169, 178

## **Q**

q-PCR 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178

Quatro tamises 112, 113, 114, 116

## **R**

Resistência 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 68, 70, 71, 74, 80, 97, 108, 109, 110, 119, 121, 123, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 140, 141, 142, 146, 147, 149, 150, 152, 153, 154, 155, 156, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 189, 204

Resistência antimicrobiana 15, 131, 141, 160

Rotinas de higienização 1, 5, 9, 11, 12

Rotinas de Higienização 1, 6

## **S**

Serviços de Saúde para Idosos 180

Sistema nervoso central 23

Staphylococcus aureus 8, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 117, 118, 119, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 134, 135, 136, 137, 138, 139

Substância antagonista 44, 45

## **V**

Validação 168, 170, 177, 178, 198

## **Z**

Zika vírus 55, 58, 64, 65, 66

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-772-7



9 788572 477727