

Resistência antimicrobiana em cepas de *Escherichia coli* isoladas de queijo Minas Frescal no município do Rio de Janeiro - Perfil fenotípico e genotípico

Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from Minas Frescal Cheese in the city of Rio de Janeiro - Phenotypic and genotypic profile

Bruna Amatto Duarte Pires^{1,*} 

Juliana Wolff Salles de Oliveira^{II} 

Cristiane Rodrigues Silva^{II} 

Shirley de Mello Pereira Abrantes^I 

Victor Augustus Marin^{II} 

RESUMO

Introdução: A resistência antimicrobiana é um problema de saúde pública. Os alimentos podem ser veículos de bactérias resistentes a antimicrobianos e genes de resistência para os seres humanos. **Objetivo:** Isolamento, identificação, avaliação da susceptibilidade antimicrobiana e identificação de genes de resistência e integrons em *Escherichia coli* isoladas de queijo Minas Frescal. **Método:** Avaliação da presença de *E. coli* em trinta amostras de queijo Minas Frescal por meio de Placas Petrifilm 3M™. Trinta isolados de *E. coli* foram avaliados através do teste de sensibilidade por disco difusão para 17 agentes antimicrobianos. Isolados fenotipicamente resistentes foram examinados por meio de PCR e Multiplex PCR para 24 genes de resistência. Genes e regiões variáveis dos integrons de classe 1, 2 e 3 também foram avaliados. **Resultados:** Em 50% dos isolados verificou-se resistência fenotípica a uma ou mais classes de antimicrobianos. Cem por cento dos isolados apresentaram o gene *bla_{TEM}* e houve amplificação dos genes *bla_{SHV}* e *tetB*. Além disso, 46,6% dos isolados fenotipicamente resistentes amplificaram para uma ou mais classes de integrons. Este é um dos primeiros estudos a identificar esses genes em queijo Minas Frescal no Brasil. **Conclusões:** O queijo pode ser uma fonte de bactérias multirresistentes e estas podem disseminar seus genes de resistência a bactérias presentes no alimento e no trato gastrointestinal humano, demonstrando a importância das Boas Práticas de Fabricação e a necessidade de maior fiscalização dos produtos colocados à venda.

PALAVRAS-CHAVE: Resistencia Antimicrobiana; *E. coli*; Integron; Queijo Minas Frescal

ABSTRACT

Introduction: Antimicrobial resistance is a public health problem. Foods may be carriers of antimicrobial resistant bacteria and resistance genes for humans. **Objective:** To isolate, identify, and evaluate the antimicrobial susceptibility and identification of resistance genes and integrons in *Escherichia coli* strains isolated from Minas Frescal cheese. **Method:** The presence of *E. coli* in thirty samples of Minas Frescal cheese was evaluated through the 3M™ Petrifilm plates. Thirty *E. coli* isolates were evaluated through the Disk Diffusion Susceptibility Test for 17 antimicrobial agents. Through PCR and Multiplex PCR the isolates were examined for the presence of 24 antimicrobial resistance genes. Genes and variable regions of class 1, 2 and 3 integrons were also evaluated. **Results:** Phenotypic resistance to one or more classes of antimicrobial agents were found in 50% of *E. coli* isolates. One hundred percent of the isolates showed PCR amplification for the *bla_{TEM}* gene and there was also amplification for *bla_{SHV}* and *tetB* genes. In addition, 46.6% of the phenotypically resistant isolates amplified to one or more classes of integrons. This is one of the first studies to identify these genes in Minas Frescal cheese in Brazil. **Conclusions:** Cheese can be a source of multiresistant bacteria and those can disseminate their resistance genes to other bacteria being in the food and human gastrointestinal tract, emphasizing the importance of Good Manufacturing Practices and greater supervision on products on sale.

KEYWORDS: Antimicrobial Resistance; *E. coli*; Integron; Minas Frescal Cheese

^I Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{II} Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

* E-mail: amattobruna@gmail.com



INTRODUÇÃO

Os alimentos e a produção de alimentos podem ser veículos de bactérias resistentes a antimicrobianos e genes de resistência para os seres humanos, fato este relacionado diretamente à saúde pública¹.

Bactérias resistentes aos antimicrobianos têm a capacidade de difundir a resistência antimicrobiana através da transferência horizontal de genes, que permite a mobilização dos genes de resistência entre bactérias². A aquisição e a transferência de genes de resistência aos antimicrobianos, associados à seleção exercida pelo uso intensivo destas substâncias na criação animal destinada ao consumo humano, corroboram a importância e a necessidade de avaliarmos a presença de bactérias resistentes a antibióticos nos alimentos³.

Intervenções que limitam o uso de antibióticos em criações animais para fins alimentares parecem estar associadas a uma redução do desenvolvimento de resistência antimicrobiana em humanos e, portanto, mais pesquisas são necessárias para explorar essa complexa associação⁴.

Os integrons desempenham um papel importante na aquisição e difusão de genes de resistência a antibióticos⁵ e na propagação da multirresistência em bactérias Gram-negativas, devido à sua capacidade de capturar os cassetes de genes no ambiente e incorporá-los⁶. Assim, a detecção e a caracterização dos integrons contendo genes de resistência aos antibióticos são passos fundamentais na avaliação do potencial de um determinado ambiente representar um reservatório de resistência aos antibióticos⁷.

Bactérias resistentes a antibióticos e genes de resistência podem ser transferidas diretamente para os seres humanos através da cadeia alimentar⁸. Sendo assim, torna-se de grande valia conhecer o fenótipo e os genes envolvidos na resistência aos antibióticos para cepas de *Escherichia coli* que colonizam produtos alimentares, já que estes podem atuar como reservatório de genes de resistência antimicrobiana⁹.

É importante ressaltar que este é um dos primeiros estudos a avaliar a presença dessas bactérias, seus genes de resistência e integrons nesta matriz alimentar, o queijo Minas Frescal.

MÉTODO

Isolamento de *E. coli*

Foram avaliadas 30 amostras de queijos Minas Frescal de 10 diferentes marcas comerciais, obtidas em supermercados do município do Rio de Janeiro.

Para o isolamento de *E. coli* foram utilizadas Placa 3M™ Petri-film™ para contagem de *E. coli*. Com este ensaio foram obtidos diversos isolados e então selecionados 30 isolados de *E. coli*, cada um proveniente de uma amostra diferente de queijo Minas Frescal. Todos os isolados foram verificados e confirmados como

sendo cepas de *E. coli* pela reação em cadeia da polimerase (PCR) de acordo com Bej et al.¹⁰.

Teste de sensibilidade por disco difusão de Kirby-Bauer

Todos os 30 isolados de *E. coli* passaram pelo teste de sensibilidade antimicrobiana para 17 agentes antimicrobianos por meio do método de disco difusão em ágar Mueller-Hinton, de acordo com os critérios do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)¹¹. Os antibióticos utilizados na realização do teste e suas respectivas concentrações no disco foram: ampicilina (10 µg), amoxicilina/ácido clavulânico (20/10 µg), ampicilina/sulbactam (10/10 µg), tetraciclina (30 µg), cefoxitina (30 µg), ceftriaxona (30 µg), ceftazidima (30 µg), cefepima (30 µg), ciprofloxacino (5 µg), ácido nalidíxico (30 µg), imipenem (10 µg), ertapenem (10 µg), gentamicina (10 µg), ampicacina (30 µg), estreptomina (10 µg), sulfazotrim (30 µg) e cloranfenicol (30 µg).

Reação em cadeia da polimerase

Todos os isolados que apresentaram resistência fenotípica a algum dos 17 antimicrobianos utilizados no teste de sensibilidade foram examinados para a possível presença de 24 genes de resistência antimicrobiana^{12,13,14,15,16,17,18,19} (Tabela 1).

Detecção dos integrons

A presença dos genes *int1*, *int2*, *int3* (que codificam para as classes 1, 2 e 3 de integrases, respectivamente) e as regiões variáveis dos integrons de classe 1 e 2 foram examinadas por meio de PCR (Tabela 2) em todos os isolados de *E. coli* de acordo com o estudo de Ryu et al.²⁰.

RESULTADOS

Isolamento de *E. coli* em queijo Minas Frescal

A maioria das amostras de queijo Minas Frescal avaliadas (96,6%) obteve na diluição 1:10 um número de isolados de *E. coli* considerado incontável. Fato que demonstra o nível de contaminação por esse microrganismo a que o alimento está susceptível. Para obtenção de isolados de *E. coli* padrão, ou seja, colônias de cor azul com formação de gás, foi necessário realizar a diluição da amostra a 1:1.000 ou 1:10.000.

Teste de sensibilidade antimicrobiana

Dos 30 isolados de *E. coli* testados, 15 (50%) apresentaram resistência a uma ou mais classes de antimicrobianos (Tabela 3).

Genes que codificam resistência

Todos os 15 isolados de *E. coli* testados foram positivos para um ou mais genes de resistência. Todos os isolados (100%) amplificaram para o gene *bla_{TEM}*, sendo que o isolado N também amplificou



Tabela 1. Genes, tamanhos e referências que foram utilizados para identificação genética de resistência antimicrobiana.

Gene	Tamanho (pb)	Referência
CTX	593	Al-Agamy et al., 2014 ¹²
Multiplex: TEM/ SHV/OXA	800/713/564	Dallene et al., 2010 ¹³
Tet A/ Tet B/ Tet C/ Tet D/ Tet E	372/288/379/436/442	Srinivasan, 2008 ¹⁴
Tet G	884	Ng, 2001 ¹⁵
MOX	520	
CIT	462	
DHA	405	
EBC (MIR)	302	Székely et al., 2013 ¹⁶
ACC	346	
FOX	190	
Multiplex: GES/ PER/ VEB	398/520/648	Al-Agamy et al., 2014 ¹²
OXA48	438	Karuniawati et al., 2011 ¹⁷
NDM	621	Karuniawati et al., 2011 ¹⁷
KPC	635	Azimi et al., 2013 ¹⁸
IMP	188	Zeighami et al., 2015 ¹⁹
VIM	390	Zeighami et al., 2015 ¹⁹

pb: pares de bases.

Tabela 2. Componentes utilizados para identificação dos integrons.

Gene	Primer	Sequência do DNA (5'-3')	Tamanho (pb)	Temperatura de anelamento (°C)
<i>int1</i>	int1-L	CTGCGTTCGGTCAAGTTCT	882	68
	int1-F	GGAATGGCCGAGCAGATCCT		
<i>int2</i>	int2.F	CACGGATATGCGACAAAAGGT	746	59
	int2.R	GTAGCAAACGAGTGACGAAATG		
<i>int3</i>	int3.F	GCCTCCGGCAGCGACTTTCAG	939	62
	int3.R	ACGGATCTGCCAAACCTGACT		
<i>Int1</i> região variável	5'CS	GCCATCCAAGCAGCAAG	Variável	60
	3'CS	AAGCAGACTTGACCTGA		
<i>Int2</i> região variável	hep74	CGGACGGCATGCACGATTTGTA	Variável	60
	hep51	GATGCCATCGCAAGTACGAG		

pb: pares de bases.

para o gene *bla_{SHV}* e o isolado C para o gene *tetB*. Esse é um dos primeiros estudos a isolar estes genes em queijo Minas Frescal.

Integrons

Dos isolados fenotipicamente resistentes, 46,6% amplificaram para uma ou mais classes de integrons. O isolado C amplificou para o integron de classe 2, 3 e também para o integron de classe II variável. O isolado H amplificou para o integron de classe 3 e o isolado M foi positivo para o integron de classe 1 e para o integron de classe I variável. Outros quatro isolados (E, F, K, L) amplificaram apenas para o integron de classe I variável.

DISCUSSÃO

Segundo Amos et al.², integrons de classe I são veículos para genes adaptativos, com a capacidade de capturar e integrar casetes móveis em uma região variável onde eles são expressos sob um promotor comum. Essas sequências gênicas podem conferir

vários fenótipos, incluindo resistência a uma ampla gama de classes de antimicrobianos.

O integron de classe I é descrito por Karuniawati, Saharman, Lestari¹⁷, como o integron mais frequentemente responsável por carrear genes de resistência, e a produção da enzima β -lactamase é um dos mecanismos de resistência mais comuns. Estudos mais recentes sobre genes de β -lactamases de espectro ampliado (ESBL) demonstraram que tais genes foram localizados em integrons. Assim sendo, os genes ESBL podem ser localizados em integrons e facilmente transferidos para diversas bactérias²¹.

Mohamed, Hassan, Ahmed²² avaliaram a prevalência de integrons de classe 1, 2, e 3 e a resistência a carbapenêmicos em bactérias Gram-negativas. Tal estudo detectou a presença de integron de classe I na maioria dos isolados resistentes a carbapenêmicos. Resultado semelhante ao encontrado no presente estudo, uma vez que dos três isolados (K, M, N) com fenótipo de resistência para carbapenêmicos (imipenem e ertapenem), apenas um (N) possuía o fenótipo de resistência para

Tabela 3. Resultados do teste de sensibilidade antimicrobiana de acordo com os isolados resistentes de *E. coli* estudados.

Isolado	Antibióticos									
A	Ampicilina									
B	Tetraciclina									
C	Ampicilina	Estreptomicina	Amoxicilina/ ác clavulânico	Tetraciclina	Cefoxitina					
D	Ampicilina	Amoxicilina/ ác clavulânico	Cefoxitina							
E	Ampicilina	Estreptomicina								
F	Ampicilina	Cefoxitina								
G	Ceftriaxona	Ácido Nalidíxico	Cefepima	Ceftazidima						
H	Ceftriaxona	Ácido Nalidíxico								
I	Estreptomicina	Ácido Nalidíxico								
J	Ác nalidíxico									
K	Ampicilina	Imipenem								
L	Ác nalidíxico									
M	Estreptomicina	Amoxicilina/ ác clavulânico	Ampicilina	Ampicilina/ sulbactam	Cefoxitina	Ceftriaxona	Sulfazotrim	Ácido Nalidíxico	Imipenem	Ertapenem
N	Amicacina	Estreptomicina	Ampicilina	Tetraciclina	Cefoxitina	Ceftriaxona	Imipenem	Ertapenem	Cefepima	Ceftazidima
O	Ampicilina	Ácido Nalidíxico								

carbapenêmicos e não amplificou para integron. Os outros dois isolados (K e M) com fenótipo de resistência amplificaram para integron I e/ou I variável.

De Paula et al.²³ analisaram a existência de integrons de classe 1, 2 e 3 em amostras de queijo Minas Frescal e observaram que a presença de integrons classe 1 e 2 foi, respectivamente, de 77% e 97%. Já os integrons de classe 3 não foram detectados em nenhuma das amostras analisadas. Tais resultados são divergentes do presente estudo, que verificou a presença de integron de classe 3 em 13,3% dos isolados de *E. coli* provenientes de queijo Minas Frescal e 33,3% de integron de classe I e I variável.

Em relação à resistência à classe das quinolonas, diversos mecanismos parecem contribuir para essa resistência. Os genes *qnr* mediados por plasmídeo são um mecanismo comum de resistência à quinolona²⁴. Tem sido sugerido que a relação entre o gene *qnr* e ESBL está coassociada com genes que codificam ESBL²¹. Níveis elevados de resistência a quinolona em cepas clínicas de *E. coli* e outras bactérias produtoras de ESBL foram reportados em diversos estudos²⁵.

Os estudos descritos acima corroboram os resultados encontrados, uma vez que a resistência à quinolona, no trabalho representada pelo ácido nalidíxico, esteve sempre associada à presença do gene *bla_{TEM}*, e em dois dos três isolados foi detectada a presença do integron, confirmando que os genes que codificam para as ESBL podem estar localizados no integron.

A presença dos genes *bla_{TEM}* e *bla_{SHV}* está relacionada à resistência a antimicrobianos da classe das cefalosporinas. As ESBL do tipo SHV, juntamente com o tipo TEM, destacaram-se na década de 1980 como causa de resistência à cefalosporina entre as Enterobacteriaceae²⁶. Como ocorre, por exemplo, no isolado N, que contém os dois genes (*bla_{TEM}* e *bla_{SHV}*) e o fenótipo de resistência

a cefalosporinas de segunda, terceira e quarta gerações (cefoxitina, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima).

Tradicionalmente, os isolados produtores de ESBL, principalmente *bla_{TEM}* e produtores de *bla_{SHV}*, exibem coresistência a aminoglicosídeos, tetraciclinas e sulfonamidas²⁷. Tal evidência corrobora o fato de o isolado N também ter demonstrado resistência fenotípica aos aminoglicosídeos (amicacina, estreptomicina) e a tetraciclina.

O trabalho de Juma et al.²⁸ avaliou a presença de genes *bla_{TEM}* e *bla_{SHV}* em isolados de *E. coli* e constatou que a presença do gene *bla_{TEM}* foi prevalente quando comparada ao gene *bla_{SHV}*. No presente estudo, foi confirmada a presença de ambos os genes (*bla_{TEM}* e *bla_{SHV}*) em apenas um (6,6%) dos isolados de *E. coli* oriundo de uma amostra de queijo Minas Frescal (isolado M). A presença do gene *bla_{TEM}* foi confirmada em todos os outros isolados testados (100%). Resultado semelhante também encontrado no trabalho de Freitas et al.²⁹.

O isolado C apresentou fenótipo de resistência para ampicilina, estreptomicina, tetraciclina, cefoxitina e amoxicilina/ ácido clavulânico. Com relação ao genótipo foram encontrados os genes: *bla_{TEM}*, *tetB* e *IntI 2, 3 e II* variável. O fenótipo de resistência à tetraciclina pode, nesse caso, ser comprovado pela existência do gene *tetB*. As tetraciclinas compõem a classe de antimicrobianos quantitativamente mais usada na terapia animal³⁰.

CONCLUSÕES

O estudo verificou a presença de *E. coli* em 100% das amostras de marcas comerciais de queijo Minas Frescal. Fato que por si só já demonstra contaminação bacteriana de origem fecal neste tipo de alimento.



Metade (50%) dos isolados de *E. coli* testados apresentaram resistência a uma ou mais classes de antimicrobianos e foi possível confirmar por PCR a presença dos genes que justificam o fenótipo de resistência apresentado na maioria dos isolados avaliados. Além disso, 46,6% dos isolados fenotipicamente resistentes amplificaram para uma ou mais classes de integrons, fato que corrobora o fenótipo de resistência apresentado por alguns isolados e demonstra a importância deste na disseminação de genes de resistência entre bactérias.

Visto que este é um dos primeiros estudos feitos em queijo Minas Frescal no Brasil a detectar a presença dos genes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *tetB* e *intl* 1, 2 e 3, espera-se que este possa colaborar na geração de dados

que melhorem a caracterização de isolados de *E. coli* resistentes a antibióticos e sua disseminação através deste tipo de alimento.

No âmbito da Vigilância Sanitária, considera-se de grande valia estudos relacionados à administração de antimicrobianos em criações animais voltados para a produção de alimentos, uma vez que esta é a principal forma das bactérias presentes no trato gastrointestinal animal adquirirem resistência. Além de estudos relacionados às Boas Práticas de Fabricação na produção deste alimento.

Espera-se ainda que este trabalho sirva como alicerce para novos estudos e políticas de saúde pública para que o alimento não venha a ser um reservatório ou transmissor de bactérias multirresistentes ao homem.

REFERÊNCIAS

1. Caniça M, Manageiro V, Abriouel H, Moran-Gilad J, Franz CMAP. Antibiotic resistance in foodborne bacteria. *Trends Food Sci Tech*. 2019;84:41-4. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.001>
2. Amos GCA, Ploumakis C, Zhang L, Hawkey PM, Gaze WH, Wellington EMH. The widespread dissemination of integrons throughout bacterial communities in a riverine system. *ISME J*. 2018;12(3):681-91. <https://doi.org/10.1038/s41396-017-0030-8>
3. Cardoso P, Marin JM. Resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* provenientes de queijo muçarela artesanal produzido no Brasil. *Ars Vet*. 2014;30(2):104-8. <https://doi.org/10.15361/2175-0106.2014v30n2p104-108>
4. Tang KL, Caffrey NP, Nóbrega DB, Cork SC, Ronksley PE, Barkema HW et al. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Planet Health*. 2017;1(8):e316-27. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(17\)30141-9](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(17)30141-9)
5. Guerin E, Cambray G, Sanchez-Alberola N, Campoy S, Erill I, Da Re S et al. The SOS response controls integron recombination. *Science*. 2009;324(5930):1034. <https://doi.org/10.1126/science.1172914>
6. Ding J, Zhuochang Chen Z, Li Y, Zhang Q, Li X. Detection of integrons in *Escherichia coli* producing plasmid-mediated AmpC β -lactamases. *Int J Clin Exp Med*. 2019;12(2):1690-6.
7. Yaqoob M, Wang LP, Fang T, Cheng-Ping LU. Occurrence and transmission of class 1 and 2 integrons among phenotypic highly ampicillin-resistant avian *Escherichia coli* isolates from Pakistan. *World J Microbiol Biotech*. 2011;27(9):2041-50. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0666-x>
8. Jiang X, Shi L. Distribution of tetracycline and trimethoprim sulfamethoxazole resistance genes in aerobic bacteria isolated from cooked meat products in Guangzhou, China. *Food Control*. 2013;30(1):30-4. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.042>
9. Jouini A, Ben Slama K, Sáenz Y, Klibi N, Costa D, Vinué L et al. Detection of multiple-antimicrobial resistance and characterization of the implicated genes in *Escherichia coli* isolates from foods of animal origin in Tunisia. *J Food Prot*. 2009;72(5):1082-8.
10. Bej AK, Dicesare JL, Haff L, Atlas RM. Detection of *Escherichia coli* and *Shigella* spp. in water by using the polymerase chain reaction and gene probes for uid. *Appl Environ Microbiol*. 1991;57(4):1013-7.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
12. Al-Agamy MH, Shibl AM, Ali MS, Khubnani H, Radwan HH, Livermore DM. Distribution of β -lactamases in carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter baumannii* in Riyadh, Saudi Arabia. *J Glob Antimicrob Resist*. 2014;2(1):17-21. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2013.08.004>
13. Dallenne C, Costa A, Decre D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(3):490-5. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp498>
14. Srinivasan V, Nam H, Sawant AA, Headrick SI, Nguyen LT, Oliver SP. Distribution of tetracycline and streptomycin resistance genes and class 1 integrons in Enterobacteriaceae isolated from dairy and nondairy farm 293 soils. *Microb Ecol*. 2008;55(2):184-93. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9266-6>
15. Ng LK, Martin I, Alfa M, Mulvey M. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes. *Mol Cell Probes*. 2001;15(4):209-15. <https://doi.org/10.1006/mcpr.2001.0363>
16. Székely E, Damjanovac I, Jánváric LE, Vas K, Molnár S, Bilca DV et al. First description of blaNDM-1, blaOXA-48, blaOXA-181 producing Enterobacteriaceae strains in Romania. *Int J Med Micro*. 2013;303(8):697-700. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.10.001>



17. Karuniawati A, Saharman YR, Lestari DC. Detection of carbapenemase encoding genes in enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* isolated from patients at intensive Care Unit Cipto Mangunkusumo Hospital in 2011. *Acta Med Indones*. 2013;45(2):101-6.
18. Azimi L, Lari AR, Talebi M, Namvar AE. Soleymanzadeh-Moghadam S. Evaluation of phenotypic methods for detection of *Klebsiella Pneumoniae* carbapenemase-producing *K. Pneumoniae* in Tehran. *J Med Bacteriol*. 2013;2(3-4):26-31.
19. Zeighami H, Haghi F, Hajiahmadi F. Molecular characterization of integrons in clinical isolates of betalactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Iran. *J Chemother*. 2015;27(3):145-51. <https://doi.org/10.1179/1973947814Y.0000000180>
20. Ryu SH, Park SG, Choi SM, Hwang YO, Ham HJ, Kim SU et al. Antimicrobial resistance and resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from commercial fish and seafood. *Int J Food Microbiol*. 2012;152(1-2):14-8. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.003>
21. Hadizadeh M, Norouzi A, Taghadosi R, Mohebi S, Mohammadi M, Hasanzadeh A et al. Prevalence of qnr, intl1, and intl2 genes in extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from clinical samples in Iran. *Trop J Pharm Res*. 2017;16(1):141-7. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v16i1.18>
22. Mohamed MSE, Hassan AT, Ahmed SMK. Prevalence of class 1, 2, and 3 integrons and carbapenem resistance in Gram-negative bacteria. *Egyptian J Med Micro*. 2016;25(3):67-73. <https://doi.org/10.12816/0036812>
23. Paula ACL, Medeiros JD, Azevedo AC, Chagas JMA, Silva VL, Diniz CG. Antibiotic resistance genetic markers and integrons in white soft cheese: aspects of clinical resistance and potentiality of horizontal gene transfer. *Genes*. 2018;9(2). <http://doi.org/10.3390/genes9020106>
24. Nordmann P, Poirel L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56(3):463-9. <http://doi.org/10.1093/jac/dki245>
25. Jiang Y, Zhou Z, Qian Y, Wei Z, Yu Y, Hu S et al. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac (6)-Ib-cr in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in China. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61(5):1003-6. <http://doi.org/10.1093/jac/dkn063>
26. Pitout JD. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012;10(10):1165-76. <http://doi.org/10.1586/eri.12.110>
27. Morosini MI, Castillo MG, Coque TM, Valverde A, Novais A, Loza E et al. Antibiotic coreistance in extended-spectrum-lactamase-producing Enterobacteriaceae and in vitro activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(8):2695-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.00155-06>
28. Juma BW, Kariuki S, Waiyaki PG, Mutug MM, Bulimo WD. The prevalence of TEM and SHV genes among extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Afr J Pharmacol Ther*. 2016;5(1):1-7.
29. Freitas ALPD, Machado DP, Soares FDSC, Barth AL. Beta-lactamases de espectro ampliado em *Klebsiella* spp e em *Escherichia coli* obtidas em um hospital escola brasileiro: detecção, prevalência e tipagem molecular. *Brazil J Microbiol*. 2003;34:344-8.
30. Schwarz S, Chaslus-Dancla E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet Res*. 2001;32(3-4):201-25. <https://doi.org/10.1051/vetres:2001120>

Agradecimentos

Agradecemos ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/FIOCRUZ) e a Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO) pela utilização de seus laboratórios de pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada. Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.