

IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA E ANTIBIOGRAMA DE ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS DE MUSCA DOMESTICA LINNAEUS, 1758 (DÍPTERA: MUSCIDAE) CAPTURADAS EM ÁREAS DESTINADAS A ALIMENTAÇÃO NO MUNICÍPIO DE SERRA TALHADA-PE

Biochemical identification and antibiogram of isolated enterobacteria of Musca domestica Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) captured in food areas in the city of Serra Talhada- PE

Amanda Vieira de Barros^{1*}, Virgínia Medeiros de Siqueira²

1. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, Brasil.

2. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Palavras-chave: Infecção, Dípteros, Salmonella enteritidis, Doenças transmitidas por alimentos..

Keywords: Congenital anomalies; Congenital Malformations; Live Births; Descriptive Epidemiology.

RESUMO - A contaminação de alimentos por bactérias coloca em risco a qualidade do alimento e a saúde do consumidor. A associação das bactérias a vetores mecânicos, como a mosca, auxilia dispersão de microrganismos prejudiciais à saúde humana. O objetivo do presente trabalho foi identificar enterobactérias potencialmente patogênicas associadas a *M. domestica* em cozinhas e restaurantes área urbana no município de Serra Talhada - PE. Os insetos foram capturados com armadilha luminosa em três locais: Mercado Público, Restaurante e Cozinha Hospitalar. Após o isolamento, 18 isolados bacterianos foram submetidos a identificação e caracterização morfofisiológica. Para tal, meios seletivos e diferenciais foram utilizados na identificação bioquímica de enterobactérias, bem como a análise do perfil de susceptibilidade frente a antibióticos. Para bactérias identificadas como *Escherichia coli* e *Salmonella sp.*, foi realizada a sorotipagem por meio de prova de aglutinação em lâmina. Foram identificadas as enterobactérias *E. coli*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Citrobacter freundii* e *Proteus vulgaris*. Os antibióticos Ciprofloxacina, Nitrofurantoína e Norfloxacin demonstraram maior inibição, enquanto que, os antibióticos Cefalotina, Cefalozina e Ampicilina, não apresentaram a mesma eficiência. Observou-se que o mercado público demonstrou maior diversidade de isolados bacterianos e a presença da *Salmonella Enteritidis*, principal causadora de salmonelose em humanos e animais. Foi comprovado que *M. domestica* atua como vetor de uma diversidade expressiva de bactérias potencialmente patogênicas, e que também apresentam resistência a importantes classes de antibióticos, indicando que os locais de coleta necessitam implementar com urgência medidas de controle de vetores, principalmente por se tratar de locais de preparo e consumo de alimentos.

ABSTRACT - Bacterial contamination of food endangers food quality and consumer health. The association of bacteria with mechanical vectors, such as the housefly, aids the spread of microorganisms harmful to human health. The objective of this study was to identify potentially pathogenic enterobacteria associated with *M. domestica* in kitchens and restaurants in the urban area of Serra Talhada – PE. The insects were captured with the aid of a light trap in three places: Public Market, Restaurant and Hospital Kitchen. After isolation, 18 bacterial isolates were subjected to morphophysiological identification and characterization. For this purpose, selective and differential media were used for biochemical identification of enterobacteria, as well as analysis of antibiotic susceptibility profile. For bacteria identified as *Escherichia coli* and *Salmonella sp.*, serotyping was performed using the agglutination test slide. They identified the Enterobacteriaceae *E. coli*, *Klebsiella sp.*, *Salmonella sp.*, *Citrobacter freundii* and *Proteus vulgaris*. The antibiotics Ciprofloxacin, Nitrofurantoin and Norfloxacin showed greater inhibition, while the antibiotics Cephalothin, Cephalozine and Ampicillin did not show the same efficiency. It was observed that the public market showed greater bacterial diversity and presence of *Salmonella Enteritidis*, the main cause of salmonellosis in humans and animals. *M. domestica* has been shown to act as a vector for an expressive diversity of bacteria resistant to important classes of antibiotics, indicating that collection sites need to urgently implement vector control measures, mainly because they are food preparation and consumption sites.

*Autor para correspondência: E-mail - amandavieirab Barros@live.com

INTRODUÇÃO

O saneamento básico apresenta um conjunto de políticas públicas que visam promover qualidade de vida e saúde para a população humana 11. Porém, o processo desorganizado de urbanização nas cidades e as ações antrópicas permitiram o surgimento e a adaptação dos animais sinantrópicos (latin sin + antropos= próximos ao homem) 15. A degradação do ambiente, acúmulo de resíduos provenientes das atividades humanas e a falta de boas práticas sanitárias, transformam os centros urbanos em locais atrativos para os animais sinantrópicos, contribuindo para sua rápida proliferação e transmissão de doenças, principalmente de caráter infecto-parasitária 8.

Os dípteros muscóides se destacam por seu importante papel como indicadores ambientais de acúmulo de matéria orgânica e atuação como vetores de doenças humanas, como conjuntivite, febre tifoide, tuberculose, diarreia, entre outras 4. A mosca doméstica (*Musca domestica* Linnaeus, 1758; Diptera: Muscidae) é um importante inseto sinantrópico que depende de matéria orgânica para sua alimentação e reprodução. Por esses motivos, a *M. domestica* é classificada como um eficiente vetor de diversos microrganismos, podendo transportar agentes patogênicos por toda a superfície corporal e no trato gastrointestinal 11.

Frequentemente o grupo bacteriano das enterobactérias (Enterobacterales: Enterobacteriaceae) são isoladas da *M. domestica* 12,16. Mesmo naturalmente presente na microbiota humana e animal, as enterobactérias estão relacionadas a diferentes tipos de quadros clínicos como infecções urinárias, conjuntivite, celulite bacteriana, gastroenterites e Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) 13.

A presença de moscas em locais destinados a alimentação é indicativo da deficiência ou ausência da aplicação de medidas sanitárias por parte do estabelecimento, se tornando um fator de risco para a saúde dos consumidores 27. A associação das bactérias aos vetores é agravada quando estas apresentaram resistência a antibióticos, facilitando sua disseminação e dificultando o tratamento em caso de DTA 5.

Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi realizar o isolamento e a identificação bioquímica de Enterobactérias isoladas de *Musca domestica* em locais de preparo e consumo de alimentos na área urbana do município de Serra Talhada-PE, buscando avaliar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos, além de realizar a tipagem sorológica de bactérias identificadas como *Salmonella* sp. e *E. coli*.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e Identificação de *M. domestica*

Os critérios adotados para a escolha dos locais de coleta incluíam apenas estabelecimentos que ofereciam serviços relacionados a alimentação e que estivessem dentro do perímetro

urbano do município de Serra Talhada-PE. Em acordo com os locais de coleta, os nomes dos mesmos foram mantidos em sigilo.

A armadilhas do tipo luminosa da marca Tecnofly® permaneceram nos locais de coleta por um período de 24 horas para captura das moscas. Para a identificação da espécie *M. domestica*, seguiu-se a “Chave para adultos de dípteros (Muscidae, Fannidae, Anthomyiidae) associados ao ambiente humano no Brasil” proposta por Carvalho (2012).

Teste de coliformes

Para as análises bacteriológicas, cada amostra submetida aos testes era representada por três exemplares de *M. domestica*, colocados dentro de Eppendorfs contendo água peptonada a 1%. Passadas 24 horas em temperatura ambiente eram repicados 0,1 mL do líquido resultante em tubos de ensaio com tubos de Durham, acrescidos de meios específicos para a realização do teste presuntivo de coliformes totais (Meio Caldo Lauril), teste confirmativo de coliformes totais (Meio Caldo Verde Brilhante) e teste confirmativo para coliformes termotolerantes (Meio Caldo *Escherichia coli* - EC) 2.

Todos os tubos de ensaio foram colocados em estufa bacteriológica com temperatura ajustada em 35 °C para Caldo Lauril e Verde Brilhante, e 45 °C para Caldo EC por no mínimo 48 h, a fim de isolar e identificar bactérias de origem fecal. Uma amostra da cola presente na placa adesiva da armadilha foi retirada e submetida aos testes de coliformes, servindo como controle negativo 2.

Identificação Bioquímica de Enterobactérias

Para o direcionamento e isolamento de enterobactérias, uma alça de platina previamente flambada foi utilizada para retirar bactérias com crescimento em caldo EC, sendo então semeadas por esgotamento em placas de Petri com os meios de cultura seletivos e diferenciais Ágar MacConkey (MC) e Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Todas as placas foram encubadas em estufa a 35 °C durante 24 h, para a observação das características macroscópicas como: características de fermentadoras ou não fermentadoras de lactose, e a presença de motilidade 19.

Para colônias que apresentaram características de não fermentadoras de lactose, com o auxílio de uma alça de platina, foram repicadas e semeadas por esgotamento em para placas de Petri contendo Ágar *Salmonella/Shigella* (Ágar SS) e incubadas em estufa, a 35 °C por 24 h, para a identificação dos gêneros *Salmonella* e *Shigella* 19.

Serotipagem de *Salmonella* sp. e *E. coli*

As bactérias identificadas como pertencentes as espécies *Salmonella* sp. e *E. coli*, foram repicadas para tubos com Ágar Nutriente e deixadas em temperatura ambiente, durante 24 h. Sobre uma lâmina de vidro limpa uma gota de água destilada

esterilizada foi depositada e realizado o esfregaço da colônia, para o desprendimento das células bacterianas da alça. A mistura se tornando homogênea, uma gota dos anti-soros E.coli O:157 Enterohemorrágica, Anti-Salmonella Polivalente e Soro Salmonella Flagelar i foram adicionados 20.

Antibiograma

Seguindo as normas da Clinical and Laboratory Standards Institute/CLSI (2016), as amostras foram repicadas para tubos contendo Ágar Nutriente inclinado, e com o crescimento constatado após 24 horas, foi realizada a suspensão bacteriana em água destilada esterilizada e ajuste para a escala de 0,5 Mcfarland. Observando turvação, um swab submerso na suspensão para semeio em tapete das amostras em placas de Petri contendo Ágar Müeller-Hinton 6.

Os discos dos antibióticos Ofloxacina (5 µg), Cefalotina (30 µg), Norfloxacin (10 µg), Gentamicina (5 µg), Ciprofloxacina (5 µg), Nitrofurantoina (300 µg), Cefalozina (30 µg) e Ampicilina (10 µg) foram selecionados e dispostos em placa, para em seguida, serem incubados em estufa sob condições de 35 °C durante 24 h. A atividade antimicrobiana é comprovada com a formação e comparação de tamanho dos halos com valores pré-estabelecidos pela CLSI 6.

RESULTADOS

As coletas foram realizadas em um Mercado Público (MP), Restaurante (RE) e uma Cozinha hospitalar (HO), entre os anos de 2016 e 2017. Observou-se que MP não apresentava um sistema de ventilação adequado ao local, além do acúmulo de resíduos nos setores de açougue, hortifrúti, mercearias, restaurantes e banheiros. No açougue e hortifrúti, a maior parte das carnes, frutas e verduras comercializadas ficavam expostas ao ar livre durante todo o horário de funcionamento, contribuindo para a presença de moscas.

Diferente do mercado público, RE possuía sistema de ventilação apropriado, assim como uma armadilha luminosa para insetos. A HO seguia as normas sanitárias vigentes de funcionamento, porém com a ausência de um sistema de ventilação e de telas nas janelas, facilitava a entrada de insetos.

Um total de 66 indivíduos identificados como *M. domestica* foram selecionados nos locais de coleta, e em análise bacteriológica todas as amostras provenientes do mercado público foram positivas para o crescimento de bactérias de origem fecal. Já na cozinha hospitalar e restaurante, cinco das sete amostras foram positivas, observando a fermentação com a formação de gás nos tubos de Durham, e turvação do meio. Para o controle negativo, as amostras retiradas da cola foram negativas para os testes presuntivos e confirmativos de coliformes totais, não sendo necessário o prosseguimento dos testes.

Cerca de 18 amostras foram submetidas as análises de identificação bioquímica e diferenciação entre fermentadoras e não fermentadoras de lactose em Ágar MacConkey e Ágar EMB, meios que diferenciam bactérias através da fermentam os açúcares, lactose e sacarose, permitindo a distinção das espécies da família Enterobacteriaceae 13 (Quadro 1). Isolados que fermentaram a lactose reduzem o pH do meio de cultura, tornando-o ácido, e através da absorção do indicador de pH vermelho neutro suas colônias apresentam coloração rosada ou avermelhada. Já as colônias de isolados não fermentadores de lactose, o meio de cultura permanece neutro ou se torna alcalino, e as colônias permanecem incolores ou transparentes 18.

Quadro 1. Caracterização de colônias bacterianas isoladas de *M. domestica* em meios seletivos para enterobactérias por local de coleta no município de Serra Talhada, PE.

Amostra	Local de coleta	Meio de Cultura	Características das colônias
1	MP	Ágar MacConkey	Não fermentadoras de lactose + motilidade.
2	MP	Ágar MacConkey	Bactérias fermentadoras de lactose com coloração rosa-vermelho.
3	MP	Ágar MacConkey	Bactérias não fermentadoras de lactose com coloração amarelo-laranja.
4	MP	Ágar MacConkey	Bactérias não fermentadoras de lactose com coloração amarelo-laranja.
5	MP	Ágar MacConkey	Bactérias fermentadoras e não fermentadoras de lactose.
6	MP	Ágar MacConkey	Bactérias fermentadoras de lactose com coloração rosa-vermelho.
7	MP	Ágar MacConkey	Bactérias fermentadoras de lactose com coloração rosa-vermelho.
8	MP	Ágar MacConkey	Bactérias não fermentadoras de lactose com coloração amarelo-laranja.
9	RE	Ágar EMB	Bactérias mucoides com núcleos escurecidos, leve brilho metálico.
10	RE	Ágar EMB	Bactérias mucoides em tom rosado.
11	RE	Ágar EMB	Bactérias mucoides com núcleo escuro.
12	RE	Ágar EMB	Bactérias com pouca mucosidade, brilho metálico esverdeado.
13	RE	Ágar EMB	Bactérias mucoides com centros escurecidos.
14	HO	Ágar MacConkey	Bactérias não fermentadoras de lactose.
15	HO	Ágar MacConkey	Bactérias fermentadoras de lactose com coloração rosa.
16	HO	Ágar MacConkey	Bactérias fermentadoras e não fermentadoras de lactose, crescimento de colônias rosas e incolores.
17	HO	Ágar MacConkey	Bactérias fermentadoras de lactose com coloração rosas.
18	HO	Ágar MacConkey	Bactérias fermentadoras e não fermentadoras de lactose, crescimento de colônias rosas e incolores.

MP: Mercado público; RE: Restaurante; HO: Hospital

As bactérias fermentadoras de lactose acidificaram o meio Ágar Salmonella/Shigella (SS), e com a presença do corante vermelho neutro, houve a formação colônias com coloração avermelhada. Para bactérias não fermentadoras, as colônias se apresentavam incolores, onde a Salmonella poderia ou não reagir com o tiosulfato de sódio e o ferro, servindo de indicadores para a produção de enxofre, causando o escurecimento do centro da colônia 13. Para as amostras coletadas do MP e HO, observou-se o crescimento de colônias

incolores com núcleos escurecidos, indicativos para crescimento de Salmonella sp.

Após a coloração de Gram e observação morfológica em microscópio, os isolados foram submetidos a identificação bioquímica em meio Ágar Tiplice Sugar Iron (TSI). O Ágar TSI serve para a identificação a nível de espécie e gênero de Enterobactérias, por meio pela fermentação de carboidratos (dextrose, lactose, sacarose) e produção de sulfeto de hidrogênio (Figura 1).

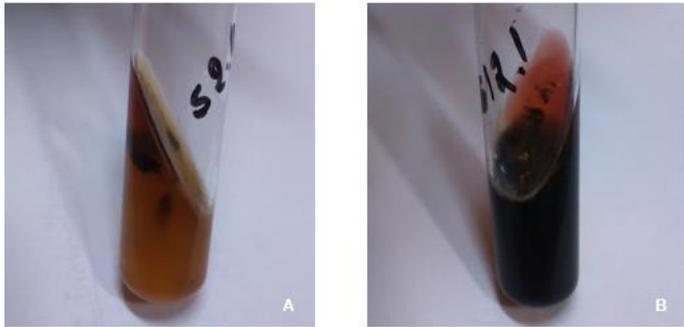


Figura 1 Resultado em Ágar TSI, indicando a presença de *E. coli* (A) e *Salmonella* sp. (B)

Características dos isolados em Ágar TSI foram comparados com as descrições do fabricante do meio de cultura (Quadro 2).

Quadro 2. Identificação de enterobactérias em meio TSI isoladas de *M. domestica* por local de coleta, em Serra Talhada-PE.

Amostra	Local de coleta	Lactose	Ágar Triple Sugar Iron	Identificação
1	MP	Positivo	Amarelo	<i>E. coli</i>
2	MP	Positivo	Amarelo e preto	<i>Citrobacter freundii</i>
3	MP	Positivo	Amarelo e preto	<i>Citrobacter freundii</i>
4	MP	Negativo	Rosa e preto	<i>Salmonella</i>
5	MP	Positivo	Amarelo+Gás	<i>E. coli</i>
6	MP	Positivo	Amarelo	<i>E. coli</i>
7	MP	Negativo	Preto, rosa e amarelo	<i>Proteus vulgaris</i>
8	MP	Positivo	Amarelo e preto	<i>Citrobacter freundii</i>
9	RE	Positivo	Amarelo	<i>E. coli</i>
10	RE	Positivo	Amarelo	<i>E. coli</i>
11	RE	Positivo	Amarelo e laranja+ Gás	<i>Klebsiella</i>
12	RE	Positivo	Amarelo	<i>E. coli</i>
13	RE	Positivo	Amarelo e laranja+ Gás	<i>Klebsiella</i>
14	HO	Positivo	Amarelo e rosa	<i>Samonella</i>
15	HO	Positivo	Amarelo	<i>E. coli</i>
16	HO	Positivo	Amarelo + Gás	<i>E. coli</i>
17	HO	Positivo	Amarelo	<i>E. coli</i>
18	HO	Positivo	Amarelo + Gás	<i>E. coli</i>

MP: Mercado público; RE: Restaurante; HO: Hospital

Amostras identificadas com *E. coli* não apresentaram aglutinação durante o teste sorológico, indicando resultado negativo para isolados de *E. coli* do sorotipo Enterohemorrágica. Apenas um isolado da coleta realizada no Mercado Público e identificada como *Salmonella* sp. apresentou resultado positivo, reagindo com o soro Anti-Samonella Poli, formando a aglutinação na lâmina analisada, indicando que o isolado pertence ao sorovar Enteritidis (Figura 2).



Figura 2. Lâmina com resultado positivo para reação de aglutinação em *Salmonella* sp. com o soro Anti-Salmonella Poli (A) e negativo para *E. coli* Enterohemorrágica (B).

Com a presença comprovada de enterobactérias isoladas a partir moscas presentes nos ambientes destinado a alimentação, fez-se necessário a realização do teste de antibiograma, devido a existência do risco em potencial da transmissão de DTA's 15. O teste de susceptibilidade a antimicrobianos indicou que as amostras apresentaram maior resistência aos antibióticos a Ampicilina (18 isolados resistentes), Cefalotina e Cefalozina (11 isolados resistentes) (Tabela 1).

Tabela 1. Medidas dos halos de inibição (mm) para antibiograma frente a antibióticos realizado com bactérias isoladas de *M. domestica* presentes em Serra Talhada- PE

Bactérias	OFX	CFL	NOR	GEN	CIP	NIT	CFZ	AMP
<i>C. freundii</i> (MP)	R	R	20	10	25	11	R	R
<i>Salmonella</i> sp. (MP)	15	22	20	20	20	10	18	20
<i>E. coli</i> (MP)	20	21	15	12	20	20	22	R
<i>E. coli</i> (MP)	15	15	15	15	18	18	19	R
<i>E. coli</i> (MP)	18	15	25	15	15	22	20	20
<i>E. coli</i> (MP)	17	20	16	16	17	17	20	R
<i>C. freundii</i> (MP)	30	20	30	18	34	20	26	20
<i>E. coli</i> (MP)	24	23	25	28	R	25	24	R
<i>C. freundii</i> (MP))	R	12	R	R	15	10	R	R
<i>E. coli</i> (MP)	22	R	20	R	28	10	R	R
<i>E. coli</i> (HO)	25	R	22	20	25	12	R	R
<i>E. coli</i> (HO)	30	25	30	15	30	20	25	23
<i>E. coli</i> (HO)	10	R	15	R	15	8	20	R
<i>E. coli</i> (HO)	R	18	R	R	R	20	19	R
<i>E. coli</i> (HO)	22	R	18	10	24	15	R	R
<i>Salmonella</i> sp. (HO)	30	R	22	10	30	19	R	R
<i>E. coli</i> (HO)	26	R	25	10	25	15	R	R
<i>E. coli</i> (RE)	22	12	25	18	25	20	20	20
<i>E. coli</i> (RE)	25	R	8	20	25	18	R	R
<i>E. coli</i> (RE)	32	20	30	22	30	20	22	21
<i>Klebsiella</i> sp. (RE)	26	24	20	10	20	15	12	R
<i>Klebsiella</i> sp. (RE)	25	R	28	18	30	18	R	R
<i>E. coli</i> (RE)	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Klebsiella</i> sp.	25	23	26	18	23	15	23	5
<i>E. coli</i> (RE)	R	R	R	R	R	R	R	R

MP: Mercado público; RE: Restaurante; HO: Hospital; **Antibióticos:** OFX- Ofloxacina; CFL- Cefalozina; NOR- Norfloxacin; GEN- Gentamicina; CIP- Ciprofloxacina; NIT- Nitrofurantoína; CFZ- Cefalozina; AMP- Ampicilina; R- Resistente

As bactérias *Citrobacter freundii* e *Escherichia coli* apresentaram resistência a mais de quatro classes de antibióticos, constatando também casos de multiresistência em isolados de *E. coli*, *Klebsiella* sp. e *Salmonella* sp. Os antibióticos Ciprofloxacina, Nitrofurantoína e Norfloxacina, demonstraram maior eficiência contra o crescimento microbiano, assim como o maior número de amostras sensíveis, representando respectivamente 53%, 88% e 57% de sensibilidade, em relação ao total de isolados (Figura 3)

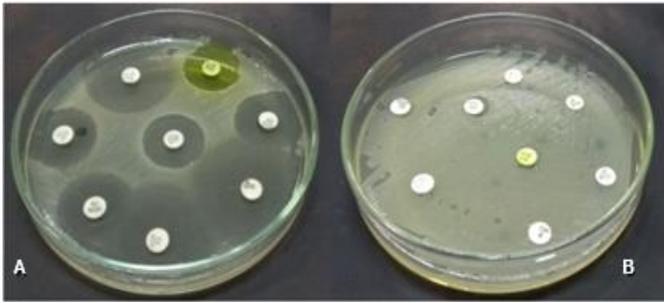


Figura 2 Teste de antibiograma em *E. coli* sensível (A) e multiresistente (B)

DISCUSSÃO

Este estudo é a primeira análise de enterobactérias associadas a *Musca domestica* realizada em uma cidade do Sertão do Pajeú. Tendo em vista que casos envolvendo resistência bacteriana estão aumentando progressivamente no Brasil e no mundo, são necessários estudos locais que direcionem o tratamento clínico mais adequado para cada caso.

O estabelecimento de diretrizes de Boas Práticas para serviços de alimentação garante condições higiênico-sanitárias do alimento preparado em todos os estabelecimentos, onde os profissionais envolvidos necessitam de especializações concernentes aos cargos que exercem, assim como é essencial estrutura física, equipamentos e utensílios adequados por parte do estabelecimento 1.

Os locais de coleta apresentavam deficiências nas condições sanitárias, comprometendo a higiene dos processos de preparo e exposição dos alimentos a serem oferecidos. Esses fatores propiciaram a presença das moscas, e com elas os ricos da associação e disseminação de bactérias predominantemente mesófilas, que se adaptam bem a locais com altas temperaturas.

Lopes (2016) descreve que dípteros muscoides possuem alta capacidade sinantrópica, atuando como vetores mecânicos de agentes patogênicos, lhes conferindo importância sanitária, epidemiológica e epizootica. A contaminação de alimentos por coliformes carregados por moscas (*M. domestica*) foi analisado por Ghosh e Zurek (2015), onde o milho fresco em flocos servia como um ótimo substrato para o desenvolvimento bacteriano, onde a carga microbiana observada era baixa logo após o contato mosca-milho, porém tornou-se fortemente contaminada decorridas de 4 a 6 h após o contato.

Na presente pesquisa, *E. coli* foi o principal agente isolado representando 55% das amostras, com predominância em análises do HO. A espécie está presente em fezes humanas e de outros animais homeotérmicos, além de em efluentes residuais, servindo como indicador de contaminação fecal de água e alimentos 9. Porém, a diversidade bacteriana identificada em associação com *M. domestica* favorece o aparecimento de doenças, assim como a disseminação da resistência a antimicrobianos, dificultando o tratamento 10. Como indicativo da diversidade dos isolados identificados como *C. freundii* representou 22,2% das amostras, seguido por *Klebsiella* sp. e *Salmonella* sp. com 11,1% cada, e *Proteus vulgaris* com 5,6%.

Em estudo no nordeste da Tailândia, Chaiwong (2014) analisou *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) e *M. domestica*, buscando determinar a prevalência de certas espécies bacterianas em moscas coletadas em mercados de alimentos frescos, lixões, restaurantes, refeitórios escolares e arrozais. Para *M. domestica*, o autor analisou cerca de 1349 indivíduos durante 13 meses, em que 439 foram isolados bactérias identificadas *Citrobacter* sp. (21.87%), *Escherichia coli* e *Escherichia coli* O157:H7 (EHEC) (19.59% e 8 1.82% respectivamente), *Klebsiella* sp. (33.03%), *Proteus* sp. (36.22), *Salmonella* sp. e *S. typhi* (17.31% e 14.12% respectivamente).

Para Evangelista-Barreto (2017), *E. coli* e *Salmonella* spp. são agentes etiológicos comumente envolvidos em casos de DTA's e resistência a antimicrobianos. Silva (2018) 23 e Varmuzova (2016) 24varga relatam que o sorovar *Salmonella* Enteritidis, também conhecida como "sorotipos não-tifóides da *Salmonella* entérica", está envolvido em grande parte dos surtos por salmonelose e doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo.

Neste estudo, o sorotipo de *Salmonella* Enteritidis foi isolado do ME, caracterizado como o local com maior deficiência sanitária. Em revisão, Varga (2015) 24 cita que *Salmonellas* não-tifóides estão associadas a 109.384 dos casos de infecção adquiridas em residências, onde destas, 80% são consideradas de origem alimentar. O autor ainda relata que os casos de infecções causadas pelo sorotipo Enteritidis aumentaram substancialmente na última década, se tornando o principal sorotipo das *Salmonella* não-tifóides 22.

Casos envolvendo bactérias multiresistentes deixaram de ser um problema restrito ao ambiente hospitalar, onde um conjunto de fatores contribuem para a disseminação de bactérias resistentes por dípteros muscoides, sendo importante ressaltar a importância da pesquisa de resistência aos antimicrobianos em bactérias presentes em *M. domestica* 14.

Comparando com os parâmetros estabelecidos do CLSI (2016), foi observado um alto índice de resistência, constatando que 72% das amostras analisadas apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano, e dentre estes 67% possuíam multiresistência. Entre alguns motivos, a disseminação da

multirresistência pode ser ocasionada pelo controle inadequado, uso indiscriminado dos antimicrobianos ou pressão seletiva das colônias bacterianas dentro do próprio vetor.

Em média, as amostras se mostraram resistentes a pelo menos dois dos quatro antibióticos testados, incluindo Ampicilina e Cefalotina. Sfaciotte (2014)²¹, esclarece que antibióticos de primeira linha, como a ampicilina, comumente apresentam altos índices de resistência. Ficou constatado também, que os antibióticos GEN, NIT, CFZ, CFL e AMP, possuíram os maiores índices de resistência, assim como os menores diâmetros dos halos formados, sendo descartados como opções para profilaxia. Dentre as bactérias gram-negativas causadoras de infecções, E. coli, Klebsiella sp. e Salmonella sp. estão constantemente associadas a resistência de diversas classes de antibióticos¹⁷, assim como observado no presente estudo.

Dentre os vários mecanismos utilizados pelas bactérias para adquirir resistência a determinados antibióticos, um importante fator é a produção de enzimas betalactamases, que promovem a degradação do anel betalactâmico, e consequentemente inativa o antimicrobiano, impedindo que ele apresente atividade contra as enzimas responsáveis pela síntese da parede celular bacteriana². Estas características podem explicar o fato dos isolados da presente pesquisa apresentarem maior resistência a Cefalotina, Cefalozina e Ampicilina, todos antibióticos Betalactâmicos.

CONCLUSÃO

A pesquisa revelou que, as condições estruturais e higiênico-sanitárias são os fatores determinantes para a presença de *M. domestica* no ambiente. Porém, mesmo o Restaurante apresentando a estrutura mais adequada referente ao serviço oferecido, as moscas ainda estavam presentes, comprometendo a higienização do local.

O resultado positivo para a presença de coliformes na maioria das amostras estudadas serve de alerta para trabalhadores e frequentadores dos locais analisados, devido ao risco de contaminação fecal dos alimentos oferecidos. Para casos de DTAs relatados, uma parte significativa são causadas por animais vetores, e devido a sua resistência e alta capacidade dispersiva, e *M. domestica* está entre os animais de maior importância médico-sanitária.

A diversidade de espécies de enterobactérias potencialmente patogênicas isoladas e o alto índice de resistência a antimicrobianos observados, evidenciam a necessidade de implantação de medidas eficientes para o controle do inseto vetor. Bactérias possuem um alto poder adaptativo e facilmente transmitem seus genes de resistência, razões pelas quais é cada vez mais difícil o tratamento para casos de bactérias multirresistentes.

De modo geral, mesmo sendo um problema complexo que envolve a deficiência estrutural dos locais de coleta, a

aplicação de medidas simples como o manejo adequado dos resíduos e higienização, diminuiria consideravelmente o número de moscas. É importante destacar que o conhecimento sobre as normas prevista pela ANVISA na RDC nº 216 são fundamentais para funcionários e frequentadores dos estabelecimentos destinados a alimentação, visando conscientizar a população e diminuir os riscos apresentados por animais vetores.

REFERÊNCIAS

1. ANVISA, BRASIL –Resolução RDC. 216, de 15 de setembro 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Diário Oficial da União, v. 16, 2004.
2. Antunes AR, Oliveira GL, Salema RB, Souza, LTD. Pesquisa de coliformes em carne bovina comercializada no município do Vale do Jequitinhonha MG. Higiene Alimentar, 2016, Vol 30, Pag. 82.
3. Carvalho CJBD, Moura MO, Ribeiro PB. Chave para adultos de dípteros (Muscidae, Fanniidae, Anthomyiidae) associados ao ambiente humano no Brasil. Revista Brasileira de Entomologia, 2012, Vol 46, Pag. 107.
4. Cervelin V et al. Enterobacteria associated with houseflies (*Musca domestica*) as an infection risk indicator in swine production farms. Acta tropica, 2018, Vol 185, Pag. 13.
5. Chaiwong T et al. The blow fly, *Chrysomya megacephala*, and the house fly, *Musca domestica*, as mechanical vectors of pathogenic bacteria in Northeast Thailand. Trop Biomed, 2014, Vol 31, Pag. 336.
6. CLSI, CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 25th informational supplement. CLSI document M100-S25. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.
7. Costa FJMD. Resistência à polimixina B em bactéria Gram-negativas carbapenemos resistentes isoladas em hospitais do Rio Grande do Norte. [Dissertação de Mestrado]. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2017. 77p.
8. Dias LS. Biogeografia e Saúde: uma visão integrada das moscas sinantrópicas de Teodoro Sampaio – SP. [Tese de Doutorado]. Presidente Prudente: Universidade Estadual Paulista; 2016. 221p.
9. Drumond SN et al. Identificação molecular de *Escherichia coli* diarréiogênica na Bacia Hidrográfica do Rio

Xopotó na região do Alto Rio Doce. Eng Sanit Ambient, 2018; Vol 23, Pág. 579.

10. Evangelista-Barreto NS et al. Veiculação de enterobactérias resistentes aos antimicrobianos em frutos do mar. Revista Brasileira de Engenharia de Pesca, 2017, Vol 10, Pag. 01.

11. Ghosh A, Zurek L. Fresh steam-flaked corn in cattle feedlots is an important site for fecal coliform contamination by house flies. Journal of food protection, 2015. Vol, 78, Pag. 567.

12. Gupta AK et al. Phylogenetic characterization of bacteria in the gut of house flies (*Musca domestica* L.). FEMS microbiology ecology, 2012, Vol 79, Pag. 581.

13. Kaiser TDL, Santiago DD, Mendes EMT, Matos BV. Detecção de betalactamase de espectro estendido em isolados de enterobactérias provenientes de um hospital da região de Santa Teresa-ES. Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR, 2016, Vol 20, Pag 3.

14. Lopes JCO. Dípteros muscoides de importância sanitária levantamento de bactérias resistentes a antimicrobianos. [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz; 2016. 93p.

15. Machado GB et al. Impact of salmonellosis on pork meat industry and its implications on public health. Arquivos do Instituto Biológico, 2016, Vol 83, Pag. 1.

16. Manandhar R, Gokhale S. Are Houseflies Still Important Vector of Gastrointestinal Infections. J Bacteriol Parasitol, 2017, Vol 8, Pag. 1.

17. Neta CM et al. Infecções por bactérias multirresistentes em hospitais brasileiros: uma revisão integrativa da literatura. Revista Saúde-UNG-Ser, 2018, Vol 11, Pag 28.

18. Oliveira EDAM, Soldi CL, Caveião C, Sales WB. Contagem de bactérias lácticas viáveis em leites fermentados. Revista Univap, 2018, Vol 24, Pag. 94.

19. Ramalho AC et al. Identificação de enterobactérias em macacos-prego-galego (*Sapajus flavius*) mantidos em cativeiro no estado da Paraíba. Biotemas, 2015, Vol 28, Pag. 177.

20. Scur MC et al. Atividade de desinfetantes frente a sorotipos de "Salmonella" isolados de granjas avícolas. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 2016, Vol 17, Pag. 14.

21. Sfaciotte RAP, Vignoto VKC, Wosiacki S R. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados bacterianos de afecções clínicas do hospital veterinário da Universidade Estadual de Maringá. Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública, 2014, Vol 1, Pag. 29.

22. Silva TR, Oliveira Fulco T, Barbosa JV. Investigação de artrópodes em alimentos na transmissão de doenças. Episteme Transversalis, 2017, Vol 6, Pag. 74.

23. Silva JFM, Batista RD, Pereira CF, Oliveira AIT. Contaminação por *Bacillus cereus* e os riscos de intoxicação alimentar. DESAFIOS, 2018, Vol 5, Pag. 30.

24. Varga C et al. Area-level global and local clustering of human *Salmonella enteritidis* infection rates in the city of Toronto, Canada, 2007-2009. BMC infectious diseases, 2015, Vol 15, Pag. 359.

25. Varmuzova K et al. Composition of gut microbiota influences resistance of newly hatched chickens to *Salmonella enteritidis* infection. Frontiers in microbiology, 2016, Vol 7, Pag. 957.