

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA  
CURSO DE FARMÁCIA

**BRUNA MATOS DE ALENCAR**

**AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE BACTÉRIAS  
CAUSADORAS DE GASTROENTERITE EM  
PACIENTES AMBULATORIAIS DO DISTRITO  
FEDERAL**

BRASÍLIA, DF

2014

BRUNA MATOS DE ALENCAR

**AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE  
GASTROENTERITE EM PACIENTES AMBULATORIAIS DO DISTRITO FEDERAL**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

**Orientadora: Dra Thaís Alves da Costa Lamounier**  
**Co-orientadora: Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva**

BRASÍLIA, DF

2014

BRUNA MATOS DE ALENCAR

**AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE  
GASTROENTERITE EM PACIENTES AMBULATORIAIS DO DISTRITO FEDERAL**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Profa. Dra. Thaís Alves da Costa Lamounier  
(FCE/ Universidade de Brasília)

---

Prof. Dr. Alex Pereira Leite  
(FCE/ Universidade de Brasília)

---

Profa. Dra. Larissa Fernandes Matos  
(FCE/ Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, DF

2014

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora, pelo dom da vida e por suas graças derramadas para que eu conseguisse chegar até aqui, alcançando os meus sonhos.

Aos meus pais, Humberto e Leutres, por serem meus exemplos de vida, por me motivarem a escolher minha profissão, por terem me ensinado a buscar os meus sonhos sem desistir em momentos de dificuldade, por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos dessa caminhada, me incentivando, me ajudando e carregando comigo as preocupações e as alegrias.

À minha irmã Rafaela pelo companheirismo, compreensão, incentivo e todos os momentos de descontração.

À Profa. Dra. Thaís Alves da Costa Lamounier e a Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva pela orientação e dedicação durante a construção desse trabalho, por estarem à disposição para me ajudar em todos os momentos.

Ao Laboratório Sabin e aos seus funcionários que muito me ajudaram e contribuíram para este trabalho.

Agradeço a Ana Paula Vieira pelo companheirismo, pela amizade e por dividir comigo as alegrias ao longo desse trabalho.

Ao Renato Gomes por ser companheiro, pelo apoio, pela paciência e incentivo em todos os momentos.

A todos os meus professores que contribuíram para a minha formação acadêmica, sem eles eu não teria obtido conhecimento para desenvolver esse trabalho.

Aos meus avós paternos e maternos pelo carinho, por acreditarem em mim e no meu potencial.

E a todos os amigos e familiares pelo apoio e carinho dedicados a mim, que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma.

## RESUMO

A gastroenterite aguda pode ser a principal causa de morte em recém-nascidos e crianças em vários países, especialmente nos países em desenvolvimento. Esta patologia está associada a infecções por diferentes tipos de microrganismos sendo as bactérias e os vírus entéricos os principais envolvidos. No Distrito Federal, no período de 2000 a 2011, ocorreram 587 óbitos decorrentes de gastroenterite e diarreia. O objetivo desse estudo foi analisar a frequência de resultados positivos de bactérias causadoras de gastroenterite no Distrito Federal. A análise foi realizada através do banco de dados das coproculturas positivas entre o período de Julho de 2012 a Julho de 2014 de pacientes atendidos na rede privada de saúde. Foram observados 52 resultados positivos no total de 12.715 análises de coprocultura apontando a presença de bactéria patogênica em pacientes do Distrito Federal, ocorrendo contaminações por *Salmonella sp.* e *E. coli*. Nesse trabalho não foi identificado a presença de *Shigella sp.*, apesar das coproculturas realizadas terem sido processadas para a identificação dessa espécie. Percebeu-se uma baixa frequência de resultados positivos considerando o total de amostras analisadas. A contaminação por faixa de idade mostrou ser significativa estatisticamente, principalmente por *Salmonella sp.* Apesar da baixa contaminação por *E. coli* O157 não se descarta a possibilidade de futuras contaminações com esta cepa bacteriana, principalmente quando relacionada a surtos alimentares. Concluímos que as principais bactérias causadoras de gastroenterite no Distrito Federal foram *Salmonella* e *E. coli* e esta última foi predominante entre os dados analisados.

Palavras-chave: Gastroenterite, coprocultura, *E.coli*, *Salmonella sp.*

## ABSTRACT

The acute gastroenteritis can be the leading cause of death in infants and children in many countries, especially in developing countries. This condition is associated with infections by different types of microorganisms, bacteria and enteric viruses are primarily involved. In the Distrito Federal, in the period from 2000 to 2011, 587 deaths from gastroenteritis and diarrhea occurred. The aim of this study was to analyze the incidence of positive results of the bacteria causing gastroenteritis in the Distrito Federal. The analysis was performed using the database of positive stool cultures between the period July 2012 to July 2014 from patients attending in private health. 52 positive results were observed in a total of 12 715 stool culture analysis pointing to the presence of pathogenic bacteria in patients in the Distrito Federal, occurring contamination by *Salmonella* sp. and *E. coli*. In this study the presence of *Shigella* sp was not identified, despite stool cultures performed were processed for identification of this species. This study perceived a low frequency of positive results considering the total samples analyzed. Contamination by age was statistically significant, especially by *Salmonella* sp. Despite the low contamination by *E. coli* O157 does not rule out the possibility of future contamination with this bacterial strain, especially when related to food borne outbreaks. We conclude that the principal bacterial gastroenteritis in the Distrito Federal were *Salmonella* and *E. coli*, and the latter predominated among the analyzed data.

Keywords: gastroenteritis, stool culture, *E.coli*, *Salmonella* sp.

**LISTA DE ABREVIATURAS**

CLSI - *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CPS ID 3- Meio Cromogênico

DAEC - *E. coli* difusamente aderente

*E. coli* - *Escherichia coli*

EAEC - *E. coli* enteroagregativa

EHEC - *E. coli* enterohemorrágica

EIEC - *E. coli* enteroinvasiva

EPEC - *E. coli* enteropatogênica

ETEC - *E. coli* enterotoxigênica

gene *eae* - gene *E. coli* attachment effacement

GN - Gram Negativo

H<sub>2</sub>S - sulfeto de hidrogênio

IAL - Pessoa e Silva ou meio de Rugai modificado

LEE - Locus of enterocyte effacement

MH - Mueller Hinton

mL - Mililitro

mRNA's - RNA's mensageiros

Multiplex RT-PCR - reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa multiplex

NaCl - Cloreto de Sódio

PCR – reação em cadeia de polimerase

qPCR - reação em cadeia da polimerase quantitativa

RT-PCR - reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa

*S. boydii* – *Shigella boydii*

*S. dysenteriae* - *Shigella dysenteriae*

*S. flexneri* – *Shigella flexneri*

*S. paratyphi* - *Salmonella*

*S. sonnei* – *Shigella sonnei*

*S. typhi* – *Salmonella typhi*

SD1 - tipo 1 de *Shigella dysenteriae*

SHU - síndrome hemolítico-urêmica

SPPS - *Statistical Package for the Social Sciences*

SS - *Salmonella e Shigella*

STEC - *E.coli* Shiga-toxinogênica

Stx - toxina shiga

Stx1 - toxina shiga 1

Stx2 - toxina shiga 2

Tir - translocado da intimina

TSA - teste de sensibilidade aos antimicrobianos



## Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	Etiologia da gastroenterite.....	10
1.2	Gastroenterite causada por vírus .....	11
1.3	Gastroenterite bacteriana.....	12
1.4	Gastroenterite por <i>Shigella</i> .....	12
1.5	Gastroenterite causada por <i>Salmonella</i> .....	13
1.6	Gastroenterite causada por <i>E. coli</i> .....	14
1.6.1	<i>E. coli</i> enterohemorrágica (EHEC).....	14
1.6.2	Fator de virulência de <i>E. coli</i> O157:H7 .....	15
1.6.3	Genes envolvidos com a <i>E. coli</i> O157:H7 .....	15
1.6.4	Métodos de diagnóstico para <i>E. coli</i> O157:H7.....	17
2	JUSTIFICATIVA.....	19
3	OBJETIVOS.....	20
3.1	Objetivos gerais .....	20
3.2	Objetivos específicos .....	20
4	METODOLOGIA .....	21
4.1	Recebimento das amostras.....	21
4.2	Processamento das amostras e identificação bacteriana .....	21
4.3	Confirmação da espécie bacteriana e TSA pelo método automatizado .....	23
4.4	Análise dos resultados de coproculturas realizadas no período de 01/07/2012 a 31/07/2014 .....	25
5	RESULTADOS .....	26
6	DISCUSSÃO.....	31
7	CONCLUSÃO .....	35
8	REFERÊNCIAS .....	36
9	ANEXOS.....	45
9.1	Anexo I.....	46

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Etiologia da gastroenterite

A gastroenterite aguda é um problema mundial e pode ser a principal causa de morte em recém-nascidos e crianças em vários países, especialmente nos países em desenvolvimento (Abu elamreen et al., 2007; Hall et al., 2012). Esta patologia é caracterizada por apresentar sintomas como: náuseas, vômitos, diarreia, febre, cólicas abdominais dolorosas e defecação frequente com sangue e muco. Isso ocorre devido à penetração e destruição do epitélio do cólon causada pelos microrganismos invasores (Abu Elamreen et al., 2007; Ezeonwu et al., 2013).

O dano no epitélio do cólon gera uma inflamação no intestino levando a combinação de sintomas característicos dessa doença que pode ser considerada aguda quando o seu tempo de duração é menor que 14 dias e persistente quando a duração supera os 14 dias. (Ezeonwu, et al., 2013; Graves, 2013).

Nos últimos 40 anos houve um reconhecimento de mais de 20 novos agentes causadores de gastroenterite. No entanto, há uma dificuldade na identificação destes agentes etiológicos devido à capacidade limitada dos laboratórios de diagnóstico para detectar a gama de patógenos, especialmente os vírus (Bresee et al., 2012). Além disso, outro problema enfrentado para a identificação e para a notificação das gastroenterites é a ausência de relato ou negligência dos sintomas pelo paciente e a falta da procura de assistência médica na fase aguda da doença (Graves, 2013).

O alto índice de ocorrência de gastroenterite em países em desenvolvimento pode ser justificado pela falta de saneamento básico e água potável, pois a via comum da infecção por estes agentes patogênicos é através da ingestão de alimentos e bebidas contaminadas ou por transmissão oro-fecal (Abu Elamreen et al., 2007; Ezeonwu et al., 2013). A água da torneira em locais que não possuem uma eficiente estação de tratamento de água e esgoto é sugestiva de contaminação por patógenos gastrintestinais, o que acaba sendo um importante veículo de transmissão (Braeye et al., 2014).

No período de 1990 a 2004, 86 surtos de doenças entéricas foram associadas com o abastecimento de água potável da rede pública na União Europeia. Nos Estados Unidos a quantidade de surtos através de água potável foi de 780 no período de 1971-2006 (Braeye et al., 2014). No Brasil, o caso de surto mais recente foi no verão do ano de 2010, na cidade de São Paulo, causado por norovírus. Atribui-se à esse surto devido à alta sazonalidade desse patógeno viral durante o verão (Luchs et al., 2013).

## **1.2 Gastroenterite causada por vírus**

A gastroenterite aguda ocasionada por vírus vem crescendo ao longo do tempo e muitas vezes a morbidade e mortalidade dessa doença é negligenciada (Lee et al., 2013). Alguns vírus já foram descritos como causa de gastroenterite como por exemplo, o norovírus, sapovírus, rotavírus, adenovírus e astrovírus infectando indivíduos de todas as idades, sendo que o rotavírus, o adenovírus e o norovírus são frequentemente associados a gastroenterite pediátrica (Borrows et al., 2014; Corcoran et al., 2014).

O rotavírus é responsável por causar 20% das mortes por diarreia em crianças menores que 5 anos em países em desenvolvimento. Atualmente, os norovírus evidenciam um crescente número de infecções tornando-se a causa mais importante de infecção viral gastrointestinal nessa idade, enquanto que o rotavírus apresenta uma diminuição significativa, principalmente em países que introduziram a vacinação para este vírus (Shoja et al., 2014; Chhabra et al., 2013).

A gastroenterite viral é uma doença altamente contagiosa podendo se disseminar rapidamente através de locais onde há alta concentração de pessoas, ambientes fechados e com elevado contato interpessoal (Conrad et al., 2013). Os métodos moleculares tem ajudado a identificação rápida destes vírus, reduzindo a ocorrência de surtos (Corcoran et al., 2014).

Os métodos laboratoriais atuais permitem uma detecção simples e fácil do vírus presente nas fezes diarreica do paciente. Já para a detecção molecular utiliza-se a reação em cadeia da polimerase multiplex (Multiplex PCR), considerado um

método sensível e específico na detecção de astrovírus, rotavírus, norovírus (genogrupos I e II) e o grupo F de adenovírus (sorotipos 40 e 41) (So et al., 2013). No calendário de imunização brasileiro, a vacina para o rotavírus já foi introduzida tornando o Brasil o primeiro país a inserir essa vacina no calendário de imunização universal (Nakagomi et al., 2008).

### **1.3 Gastroenterite bacteriana**

Além das gastroenterites virais, alguns agentes bacterianos altamente patogênicos podem causar doenças graves e até mesmo a morte de crianças. Na gastroenterite bacteriana os patógenos frequentemente associados a essa doença são a *Escherichia coli*, *Shigella spp*, *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp*, *Vibrio cholerae* e a *Yersinia enterocolitica* (Abu elamreen et al., 2007).

A maioria das técnicas de diagnóstico por infecções bacterianas são tradicionais, baseadas em cultura realizada em laboratórios de microbiologia, porém, essas técnicas tradicionais são mais demoradas, em comparação com as técnicas moleculares, o que pode gerar um atraso na liberação dos resultados. A detecção molecular de agentes patogênicos tem demonstrado ser útil na identificação de bactérias podendo ser mais rápida e mais sensível, porém o com custo mais elevado (Koziel et al., 2013).

### **1.4 Gastroenterite por *Shigella***

A shigelose é uma doença bacteriana aguda do intestino grosso e delgado e pode ser causada por um grupo de bactérias Gram negativas, que são bacilos anaeróbios facultativos pertencentes a várias espécies como a *Shigella flexneri* (grupo B, com 14 sorotipos), *Shigella dysenteriae* (grupo A, com 15 sorotipos), *Shigella boydii* (grupo C, com 20 sorotipos), e *Shigella sonnei* (grupo D, com apenas

1 sorotipo). O tipo 1 de *Shigella dysenteriae* (SD1) produz a toxina Shiga (Stx), que pode causar graves epidemias e apresenta taxas de letalidade mais elevada em comparação aos outros sorotipos (Jeong et al., 2010; Kuo et al., 2009).

Surtos de *Shigella sonnei* são mais frequentes em países industrializados, enquanto que *S. dysenteriae*, *S. boydii* e *S. flexneri* estão presentes em surtos de países em desenvolvimento. Sintomas de diarreia aquosa estão associados principalmente com *S. sonnei* e diarreia sanguinolenta são mais frequentes nas outras três espécies. Os surtos de shigelose, como os surtos de outros patógenos causadores de gastroenterite têm sido associados com condições de falta de higiene pessoal e ambientes com grande quantidade de pessoas, como em navios, creches e escolas, podendo atingir níveis em larga escala quando são considerados os fatores de origem alimentar (Kuo et al., 2009).

### **1.5 Gastroenterite causa por *Salmonella***

Outra espécie bacteriana relacionada às gastroenterites é a *Salmonella* entérica, classificada como uma bactéria Gram negativa que apresenta uma alta diversidade de espécies contendo mais de 2.600 sorotipos diferentes por sua variabilidade antigênica. Essa bactéria tem uma importância mundial relevante em casos de doenças de origem alimentar (Gal-mor et al., 2014; Ince et al., 2012).

Dados epidemiológicos relacionados as gastroenterites causadas por *Salmonella* em países em desenvolvimento evidenciam menor frequência nestes países se comparada aos países em desenvolvimento. A *Salmonella sp* é reconhecida como importante causa de doenças diarreicas durante a infância e a principal forma de contaminação é através de alimentos contaminados principalmente os de origem animal (Ince et al., 2012).

A *Salmonella* serovar não tifoide é uma causa comum de intoxicação alimentar bacteriana. Os dados epidemiológicos são significativos, evidenciando uma estimativa de 93,8 milhões de casos em todo o mundo e 155 mil mortes por ano (Parry et al., 2013). As manifestações clínicas causadas por essa bactéria podem variar desde uma infecção subclínica até risco de morte para o paciente. Apesar de

infecções por *Salmonella* não tifóide apresentarem diarreia auto limitada, sem a necessidade do uso de medicamentos, infecções extra-intestinais podem ocorrer, desencadeando como, por exemplo, a bacteremia (Parry et al., 2013).

A febre tifóide e a febre paratifóide também são responsáveis por causar gastroenterite. Poucos estudos evidenciam casos de gastroenterite por *Salmonella* entérica serovar Typhi (*S. Typhi*) e Paratyphi (*S. Paratyphi*) a nível mundial devido à menor frequência e frequência de casos em relação à gastroenterite causada por outros patógenos entéricos (Das et al., 2014).

## **1.6 Gastroenterite causada por *E. coli***

A *Escherichia coli* que é uma bactéria presente na microbiota assim como outras bactérias da microbiota e que pode vir a se tornar patogênica por meio da aquisição de determinantes genéticos, influenciando assim a sua aderência e toxicidade (Amisano et al., 2011). Há seis grupos de cepas de *E. coli* causadoras de diarreia ou gastroenterite: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* difusamente aderente (DAEC) (Amisano et al., 2011; Iijima et al., 2007).

### **1.6.1 *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)**

A bactéria Gram negativa EHEC tem como principal forma de contaminação a via oro-fecal. Em humanos podem causar doenças graves, entretanto, em bovinos são bactérias comensais, contudo, considerando o potencial zoonótico, estas bactérias podem ser liberadas através das fezes dos bovinos e contaminar alimentos que serão ingeridos por humanos (Ahmed e Abouzeed, 2014; Mainil et al., 2011). Estas bactérias causam desde diarreia simples até doenças consideradas fatais

como, por exemplo, a síndrome hemolítico-urêmica (SHU) (Thévenot et al., 2013; Hansen et al., 2011; Eppinger et al., 2011).

No rim há receptores para a toxina Shiga, o qual são produzida pelas bactérias produtoras de toxina Shiga. A ligação da toxina aos receptores pode levar a lesão renal e vascular, com a possibilidade de gerar a síndrome hemolítico-urêmica, que significa a perda ténue de néfrons e disfunção endotelial sistêmica. Essa disfunção endotelial pode desencadear a patogênese da doença cardiovascular devido aos efeitos sobre o rim, por uma hiperfiltração renal a qual pode vir a resultar em hipertensão arterial crônica e insuficiência renal irreversível (Clark et al., 2010).

### **1.6.2 Fator de virulência de *E. coli* O157:H7**

Várias cepas de *E. coli* podem causar doenças, porém as que mais preocupam são as bactérias enterohemorrágicas responsáveis por produzir a toxina Shiga (Stx), a qual pode produzir duas classes principais de toxina: a Stx1 e a Stx2 (Tyler et al., 2013). A Stx é um importante fator de virulência não somente por causar danos ao epitélio, mas também por dar origem a SHU (Zumbrun et al., 2013). A EHEC sorotipo O157:H7 é uma das responsáveis pela produção de toxina Shiga sendo um motivo de preocupação no cenário internacional (Bono et al., 2012).

O O157:H7 é o sorotipo mais comum na América do Norte, estando presente em países desenvolvidos e em desenvolvimento (Eppinger et al., 2011; Clark et al., 2010). Este sorotipo é uma das causas de gastroenterite aguda e de outras doenças gastrointestinais. Pessoas infectadas podem ser facilmente tratadas, porém, a grande preocupação é ao longo prazo que pode ocorrer a produção de Stx o qual pode gerar danos ao rim e ao coração (Hizo-Abes et al., 2013).

### **1.6.3 Genes envolvidos com a *E. coli* O157:H7**

Uma compilação de sequências da extremidade 5' de RNA's mensageiros (mRNA's) de *E. coli* mostrou que grande parte dos mRNAs tem 40-80 bases não traduzidas, porém alguns ainda conseguem ser muito maiores. Estas sequências que foram descritas podem adaptar diferentes estruturas secundárias e através disso foi definido que estas estruturas podem desempenhar uma variedade de funções reguladoras (Islam et al., 2012).

Há um processo complexo no que diz respeito a patogênese de *E.coli* O157:H7, pois exige uma expressão coordenada de fatores de virulência e reguladores genéticos. Além da toxina Shiga, Stx1 e Stx2, há fatores de virulência codificados na ilha de patogenicidade locus of enterocyte effacement (LEE) sendo eles, como por exemplo, os fatores de secreção do tipo III (Dong et al., 2009; Yin et al., 2011).

A ilha LEE contém cinco importantes operons que são: LEE1, LEE2, LEE3, LEE4 e tir (Sperandio et al., 2000). O operon LEE1 é responsável por controlar a expressão dos principais determinantes de patogenicidade de *E.coli* O157:H7 que são codificados na ilha de patogenicidade LEE (Islam et al., 2012). Essa ilha de patogenicidade codifica proteínas que são fundamentais para a adesão e colonização das bactérias no intestino o que leva ao agravamento da doença (Yin et al., 2011).

A expressão gênica é responsável por codificar proteínas de superfície da membrana externa de intimina adesina e seu receptor, chamado de translocado da intimina (Tir), que são importantes por melhorar a adesão da bactéria no trato gastrointestinal do hospedeiro. Muitos reguladores estão envolvidos na mediação da expressão desses fatores de virulências presentes na ilha como LER, GRLA e GrIR (Dong et al., 2009; Yin et al., 2011).

O LER é um ativador central da transcrição da maioria dos genes da ilha de patogenicidade LEE, o GRLA é um regulador positivo, enquanto que o GrIR é um regulador negativo da transcrição de LER. Vários outros elementos são codificados fora do locus de LEE, tais como a IHF, H-NS e ClpXP, e ainda assim estão envolvidos no controle da expressão LEE agindo em adição aos reguladores. O ClpXP, por exemplo, se localiza fora do locus e é um regulador positivo da expressão da ilha de patogenicidade LEE (Kitagawa, Takaya e Yamamoto, 2011).



O gene presente em LEE que codifica a intimina adesina é o gene *E. coli attachment effacement (eae)*, a intimina adesina além de ser importante para a EHEC, desempenha a mesma função em EPEC, que é promover a ligação das bactérias na célula do epitélio do paciente (Blanco et al., 2005; Sperandio et al., 2000; Yang et al., 2014; Silva et al., 2014). Estudos demonstram que o gene *eae* mostrou ser indispensável para a infectividade tanto de EPEC quanto de EHEC (Yang et al., 2014; Silva et al., 2014).

Estudos realizados no isolamento de EPEC e EHEC mostraram uma gama genética de variedade do gene *eae*. Pelo menos 20 diferentes subtipos deste gene, até o momento, já foram descritos na literatura e na base de dados do GenBank. Esses subtipos mostram uma variação genética significativa resultando uma grande diversidade genética (Yang et al., 2014).

Alguns estudos acreditam que essa variação pode influenciar no tropismo da bactéria pelos tecidos o qual o gene *eae* está relacionado (Yang et al., 2014). A diversidade genética também pode ser derivada de variantes do gene que codifica o receptor Tir (Hartland et al., 1999).

Cinco sorotipos são os principais responsáveis pela síndrome hemorrágica e a síndrome hemolítico urêmica, eles são caracterizados por abrigar a toxina shiga (*stx*) e o gene da intimina adesina (gene *eae*). Os sorogrupos causadores da síndrome são: O157: H7, O26: H11, O103: H2, O111: H8, e O145: H28 (Islam et al., 2012). O sorogrupos O157: H7 e O145: H28 estão associados com o gene *eae* - $\gamma$ 1 (Bibbal et al., 2014).

#### **1.6.4 Métodos de diagnóstico para *E. coli* O157:H7**

Devido aos problemas gerados por esse sorotipo a identificação da *E. coli* O157:H7 é importante na rotina dos laboratórios de microbiologia. Métodos convencionais baseados em cultura que envolvem o enriquecimento, isolamento bacteriano e a incubação têm sido usados durante muitos anos e apresentam vantagens como a capacidade de monitorar a viabilidade celular, baixo custo, facilidade técnica e sensibilidade. Todavia, os métodos convencionais não são muito

viáveis pelo tempo que precisam para serem realizados, entre de 5 a 6 dias, incluindo incubação em caldo ou meios de enriquecimento (Gordillo et al., 2014; Couturier et al., 2011; Wang et al., 2009).

Inicialmente o meio de cultura mais utilizado para o isolamento de O157:H7 era o agar Sorbitol MacConkey, contudo, uma versão modificada desse meio deu origem ao agar Sorbitol MacConkey com cefixima e telurito sendo mais seletivo para o isolamento da bactéria. Esses meios apresentam algumas limitações como a geração de resultados falso-positivos para bactérias não fermentadoras de sorbitol e não sendo eficaz para recuperar células fisiologicamente estressadas de O157:H7. Para recuperar essas células e aumentar a concentração do patógeno é necessário uma etapa de enriquecimento (Park, S., 2011; Suo e Wang, 2013).

Técnicas de biologia molecular vem sendo utilizadas como método de diagnóstico: a PCR quantitativa em tempo real e recentemente técnicas de microarranjos. A reação em cadeia de polimerase (PCR) é um método rápido, sensível e específico para a identificação de *E.coli* sorogrupo O157 tornando-se ainda mais sensível pelo fato de identificar o sorogrupo e o antígeno flagelar H7 (Ngwa, et al., 2013; Sen et al., 2011).

## 2 JUSTIFICATIVA

Casos de diarreia causam 1,2 milhão de mortes por ano em todo o mundo, atingindo em grande escala países em desenvolvimento aonde o número registrado ainda é maior do que em países desenvolvidos. Em 2004, a taxa de mortalidade em crianças menores que 5 anos no Brasil, com exceção de neonatos, foi de 34 mortes por mil, 12% dessas mortes foram atribuídas a doenças diarreicas (Siqueira et al., 2013; Monahan et al., 2013).

No Distrito Federal, no período de 2000 a 2011, ocorreram 587 óbitos decorrentes de gastroenterite e diarreia (BRASIL, 2014). Em janeiro de 2009 a dezembro de 2013 ocorreram 8.721 internações, onde 3.495 foram referentes a crianças de 1 a 4 anos de idade e 1.353 em crianças menores que 1 ano. Esses dados mostram que mais da metade das internações foram de crianças de até 4 anos de idade em um curto período de tempo (BRASIL, 2014).

Portanto, existe a necessidade do diagnóstico correto envolvendo o isolamento de enteropatógenos. Além disso, é fundamental abordar o assunto em estudos voltados para essa determinada população para que medidas de prevenção possam ser criadas e aplicadas corretamente garantindo uma maior qualidade de vida para a população do Distrito Federal.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivos gerais**

Analisar a frequência de resultados de bactérias causadoras de gastroenterite em uma rede privada de saúde do Distrito Federal a partir de exames de coprocultura.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Identificar os tipos de bactérias causadoras de gastroenterite em fezes diarreicas de pacientes do Distrito Federal a partir dos resultados de coproculturas positivas no período de Julho de 2012 a Julho de 2014.
- Correlacionar idade e sexo dos pacientes com os tipos de bactérias isoladas.
- Avaliar a frequência das diferentes cepas de *Escherichia coli*.
- Analisar a positividade de cepas de *E. coli* O157.
- Descrever a rotina Laboratorial de coprocultura da rede privada de saúde para contribuição bibliográfica.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Recebimento das amostras

O Setor de Microbiologia da rede privada de saúde recebe em média cerca de 508 coproculturas por mês. As amostras fecais eram recebidas por meio de *swab* ou no próprio recipiente de fezes contendo o meio de transporte *Cary Blair* o qual promove a conservação dos microrganismos de interesse clínico. Ainda, as amostras fecais poderiam ser frescas (sem conservantes), porém, o processamento destas deveria ser realizado até 2 horas após a emissão das fezes, sem refrigeração. O processamento das amostras fecais foi observado desde o recebimento das amostras até a liberação final do resultado no sistema SHIFT e serão descritos a seguir.

### 4.2 Processamento das amostras e identificação bacteriana

A amostra fecal foi inoculada em caldo Gram Negativo (GN) (fabricante Plast Labor®) utilizado para o enriquecimento seletivo de *Salmonella* sp e *Shigella* sp e também em ágar sólido MacConkey (fabricante BiomeriêuX®) com a finalidade de isolar enterobactérias fermentadoras ou não de lactose.

O caldo GN foi homogeneizado e incubado por um período de 6 a 8 horas a 35°C e o ágar MacConkey foi incubado em estufa por 24 horas a 35°C.

Após esse período, o caldo GN foi semeado por esgotamento em ágar *Salmonella – Shigella* (SS) (BiomeriêuX®) durante 24 horas a 35°C para que fosse feito o isolamento da bactéria de interesse das espécies, no caso, *Salmonella* e *Shigella*. Colônias de coloração preta eram interpretadas como produção de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), indicando o crescimento de *Salmonella* sp, enquanto que colônias incolores eram sugestivas do crescimento de *Shigella* sp.

As colônias crescidas em ágar MacConkey após incubação eram repicadas em meio IAL ou Rugai modificado (fabricante Plast Labor®) para identificar as principais espécies de *Vibrios*, *Aeromonas* e Enterobactérias incluindo a *Escherichia coli*.

Os tubos de IAL com confirmação de *E. coli*, *Shigella* sp e com coloração preta devido a produção de H<sub>2</sub>S suspeita de *Salmonella* sp eram separados. Os tubos positivos para *E. coli* proveniente de fezes diarreicas eram selecionados para posterior análise. Já os tubos de fezes com aspecto normal (fezes formadas ou semi formadas) e com a positividade para *E. coli* eram considerados negativos, pois, a interpretação da presença de *E.coli* é devido a flora bacteriana normal do paciente.

Os tubos do meio de Rugai que apresentam H<sub>2</sub>S positivo eram analisados de acordo com a interpretação das placas de ágar SS previamente incubados. O meio de Rugai com positividade para H<sub>2</sub>S, porém negativo no meio de cultura *Salmonella* e *Shigella* (SS) era interpretado como *Citrobacter* sp. e então liberado como negativo. O crescimento de colônias pretas no meio SS e coloração preta do meio de Rugai indicava a presença de *Salmonella* sp nas fezes.

Uma colônia preta e isolada presente no meio SS foi semeada por meio da técnica de esgotamento em ágar Mueller Hinton (Biomeriêu®) o qual foi incubado em estufa a 35°C por 24 horas.

Para a identificação de *Shigella* sp o meio de Rugai e o ágar SS também foram analisados. Observou-se a coloração sugestiva de *Shigella* sp através das provas bioquímicas do meio de Rugai e a presença de colônias incolores derivadas do crescimento dessa bactéria em ágar SS. Após essas duas indicações algumas colônias isoladas do meio SS eram coletadas e semeadas por esgotamento no ágar Mueller Hinton (MH) o qual era incubado a 35°C por 24 horas.

Para a identificação de *Escherichia coli* enteropatogênica colônias do semeio primário que cresceram no meio MacConkey e sugestivas de lactose negativa eram repicadas em meio de Rugai. Após permanecer durante 12 horas em estufa a 35°C o meio de Rugai era analisado. As provas bioquímicas indicativas de *E.coli* provenientes de fezes diarreicas foram separadas para que seja colocado 1 gota do reativo de Ehrlich para indol na tampa do meio de Rugai. O meio que apresentar indol negativo era interpretado como *Enterobacter* sp e o resultado liberado como negativo. Amostras diarreicas com indol positivo foram consideradas suspeitas da

presença de *E.coli* patogênica e encaminhadas para o semeio em meio cromogênico (CPS) (Biomeriêu®) e ágar Mueller Hinton (MH).

#### 4.3 Confirmação da espécie bacteriana e TSA pelo método automatizado

Se houvesse crescimento no ágar MH a colônia com suspeita de *Salmonella*, *Shigella* ou *Escherichia coli* era diluída de acordo com a escala de McFarland para bacilos Gram negativos com o objetivo de confirmar a espécie bacteriana e para realizar o teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) ou antibiograma, no equipamento Vitek 2 (Biomeriêu®).

A diluição da colônia foi feita em 3 mL de solução salina estéril (NaCl 0,9%). Em seguida foi medida a densidade da diluição que deve conter uma O.D entre 0,5 a 0,63 de acordo com a escala de McFarland. A diluição em tubo (em duplicata) era acoplada nos cartões de identificação de Enterobactérias (REF 413 204) e no cartão de TSA para bacilos Gram negativos (AST-N239). Estes cartões eram introduzidos no compartimento a vácuo do aparelho Vitek 2 (Biomeriêu®) e após sucção da bactéria devidamente diluída, o cartão era encaixado na torre de identificação do aparelho para a confirmação das espécies bacterianas e para a realização do antibiograma.

Com a confirmação de *Salmonella* sp no aparelho foi realizada a sorotipagem para a definição do sorotipo desta bactéria. A sorotipagem era feita pelo método de aglutinação em látex com o Sorokit para *Salmonella* (Probac®). A amostra diluída em solução salina foi colocada em contato com as partículas de látex revestidas com anticorpos para a identificação dos sorotipos A, B, C1, C2, D e E. Em caso de aglutinação o sorotipo de *Salmonella* seria identificado por meio da formação de grumos ou partículas aglutinadas.

Para a confirmação de *E. coli*, colônias do semeio primário, em ágar MacConkey, eram coletadas com uma alça bacteriológica e semeadas por meio da técnica de esgotamento em meio CPS, o qual é incubado a 35°C por 24 horas. O aparecimento de colônia rosa escuro no meio era sugestiva de positividade para a bactéria. Esta coloração era gerada devido ao fato desta espécie bacteriana produzir

uma enzima denominada beta – glucuronidase que reage com o substrato cromógeno do meio. Após a observação do meio CPS as colônias que foram semeadas no meio MH são diluídas de acordo com a escala de McFarland e em seguida é feita mais uma confirmação, via automação.

As colônias previamente crescidas no meio Mueller Hinton conforme descrito no item 4.2 foram utilizadas também para a realização da sortipagem de *E.coli* com sorokit (fabricante Probac®), por aglutinação em látex, igualmente descrita para a sorotipagem de *Salmonella* sp. As colônias do meio Mueller Hinton foram coletadas através de um alça bacteriológica e diluídas em 3 mL de solução salina. Agitou-se a diluição em seguida foram adicionados 50 µL da diluição em 6 lâminas e acrescenta-se uma gota de cada reagente, para identificação de: *E. coli* clássica polivalente A, *E. coli* polivalente invasora A, *E. coli* clássica polivalente B, *E.coli* invasora polivalente B, *E.coli* clássica polivalente C e *E.coli* O157. O polivalente A utilizado na sorotipagem era composto por anticorpos contra as *E. coli* 026, 055, 0111 e 0119, o polivalente B era corresponde aos anticorpos contra as *E. coli* 0114, 0125, 0142 e 0158 e o polivalente C a *E. coli* 086, 0126, 0127 e 0128.

As lâminas passavam a conter suspensões de reagente – bactéria e deveriam ser homogeneizadas com o auxílio de um palito realizando movimentos circulares por 1 a 2 minutos para que ocorresse o aparecimento de grumos esbranquiçados. Caso não ocorresse o aparecimento de grumos o resultado será considerado negativo. Já se houvesse o aparecimento de aglutinação seria necessário observar qual o reagente foi utilizado e liberar o resultado com o sorotipo responsável pela aglutinação e posteriormente realizar o antibiograma com o objetivo de identificar o perfil antimicrobiano de sensibilidade.

Todos os resultados que confirmaram a presença de *Salmonella*, *Shigella* ou *E. coli* foram submetidos ao teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA). Alguns antibióticos de interesse clínico não estavam presentes no cartão utilizado no aparelho, por isso era necessário a realização do TSA manual pela técnica de Kirb Bauer.

Nesta técnica, a preparação da diluição para a confecção do inóculo era equivalente na técnica automatizada, porém, na técnica manual um swab deveria ser introduzido no tubo o qual contém a diluição padronizada na escala de McFarland e em seguida deveria-se comprimir o swab na parede do tubo para retirar o excesso e semeá-lo em ágar Mueller Hinton desbastando pela placa para um



crescimento bacteriano uniforme. A placa deveria secar em capela de fluxo e após a secagem os discos de antibióticos poderiam ser colocados com o auxílio de uma pinça estéril.

De acordo com a *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) os antibióticos de escolha para a realização de antibiograma de *E.coli* são: Ampicilina, Ampicilina associada a Sulbactam, Amoxicilina associada a Clavulanato, Piperacilina associada a Tazobactam, Sulfametoxazol associado a Trimetoprima, Cefepime, Ceftazidima, Ceftriaxona, Cefaloxina, Cefalotina, Cefoxitina, Ertapenem, Meropenem, Imipenem, Ciprofloxacino, Norfloxacino, Ácido nalidíxico, Amicacina, Gentamicina, Nitrofurantoína e Colistina. Enquanto que os antibióticos de escolha para *Salmonella* foram: Ampicilina, Levofloxacino, Sulfametoxazol, Ciprofloxacino e Ceftriaxona.

#### **4.4 Análise dos resultados de coproculturas realizadas no período de 01/07/2012 a 31/07/2014**

Os dados obtidos foram gentilmente cedidos pela Dra. Alessandra Freitas, responsável pelo setor de Microbiologia da rede privada de saúde. Estes dados são referentes aos resultados de coproculturas realizadas no período selecionado e que estavam disponíveis no sistema informatizado do laboratório.

Este projeto foi aprovado (Anexo I) pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília CAAE: 31843414.6.0000.0030.

Os resultados foram tabulados no programa *Excel® for Windows* versão 2010. Em seguida, para realizar a análise estatística foi utilizado o pacote estatístico SPSS versão 20.0. Foram executadas análises estatísticas descritivas (cálculos de frequências, médias e desvios padrões) e também foram executadas as estatísticas inferenciais. Para a associação de variáveis qualitativas foi utilizado o teste qui-quadrado e para a comparação de médias o teste de ANOVA (verificada a pressuposição de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk). O nível de significância adotado foi de 5%.

## 5 RESULTADOS

Foram realizados 12.715 coproculturas na rede privada em um período 2 anos, em que 52 resultados foram positivos apontando a presença de bactéria enteropatogênica em pacientes do Distrito Federal. Esses indivíduos possuíam média de idade 30 (+/-3) anos.

Os pacientes foram divididos de acordo com a faixa etária em lactentes, crianças, adolescentes, adultos e idosos (Tabela 1). Os lactentes constituíam pacientes de até 2 anos de idade, crianças de 3 a 10 anos, adolescentes entre 11 a 18 anos, adultos de 18 a 60 anos e idosos 60 anos ou mais. A distribuição de casos entre a faixa de idade foi de 12 (23,1%) pacientes lactentes, 2 (3,8%) crianças, 3 (5,8%) adolescentes, 26 (50%) adultos e 9 (17,3%) idosos.

É possível observar que no ano de 2012, 7 pacientes (13,5%) exibiram resultado positivo de coprocultura. Em 2013, 37 pacientes (71,2%) obtiveram resultado positivo e em 2014, 8 pacientes (15,4%) apresentaram resultado positivo para cultura de fezes. Em relação ao sexo, 29 pacientes (55,8%) eram do sexo masculino e 23 feminino (44,2%).

As bactérias isoladas *E.coli* e *Salmonella* sp foram responsáveis pelo resultado positivo das coprocultura analisadas. Ainda, de acordo com a Tabela 1, 4 amostras (7,7%) foram positivas para *E. coli* não tipificada, 23 amostras (44,2%) foram positivas para *E. coli* clássica, 18 amostras (34,6%) mostraram positividade para *E. coli* clássica polivalente A ou B e 2 amostras (3,8%) de pacientes foram positivas para *E.coli* sorotipo O157. Apenas 5 amostras (9,6%) foram identificadas como positivas para *Salmonella* entérica spp.

Tabela 1: Distribuição dos pacientes segundo o ano da realização do exame, o sexo, o resultado da coprocultura e a faixa etária. Rede privada de saúde – Distrito Federal, de Julho de 2012 a Julho de 2014.

		N	%
<b>Ano</b>	2012	7	13,5
	2013	37	71,2
	2014	8	15,4
<b>Sexo</b>	Masculino	29	55,8
	Feminino	23	44,2
<b>Resultado</b>	<i>Escherichia coli</i>	4	7,7
	<i>Escherichia coli clássica</i>	23	44,2
	<i>Escherichia coli clássica polivalente A ou B</i>	18	34,6
	<i>Escherichia coli O157</i>	2	3,8
	<i>Salmonella entérica ssp</i>	5	9,6
<b>Faixa</b>	Idoso	9	17,3
	Adulto	26	50,0
	Adolescente	3	5,8
	Criança	2	3,8
	Lactente	12	23,1

De acordo com a distribuição dos resultados positivos de coprocultura segundo o ano, o sexo e a faixa etária, não houve isolamento de *E coli* O157 no ano de 2012 mas um caso foi isolado no ano de 2013 e outro caso no ano de 2014. Por outro lado, observou-se que a *E. coli clássica* foi identificada em 19 coproculturas positivas no ano de 2013, e nos demais anos pesquisados, apenas 2 casos foram confirmados em cada ano (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição dos resultados das coproculturas segundo o ano da realização do exame, o sexo e a faixa etária. Rede privada de saúde – Distrito Federal, de Julho de 2012 a Julho de 2014.

		Resultado										P <sup>1</sup>
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Escherichia coli clássica</i>		<i>Escherichia coli clássica polivalente A ou B</i>		<i>Escherichia coli O157</i>		<i>Salmonella entérica ssp</i>		
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
<b>Ano</b>	2012	1	25	2	8,7	3	16,7	0	0	1	20	0,358
	2013	1	25	19	82,6	13	72,2	1	50	3	60	
	2014	2	50	2	8,7	2	11,1	1	50	1	20	
	<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>100</b>	<b>23</b>	<b>100</b>	<b>18</b>	<b>100</b>	<b>2</b>	<b>100</b>	<b>5</b>	<b>100</b>	
<b>Sexo</b>	Masculino	2	50	13	56,5	10	55,6	2	100	2	40	0,708
	Feminino	2	50	10	43,5	8	44,4	0	0	3	60	
	<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>100</b>	<b>23</b>	<b>100</b>	<b>18</b>	<b>100</b>	<b>2</b>	<b>100</b>	<b>5</b>	<b>100</b>	
<b>Faixa</b>	Idoso	2	50	4	17,4	2	11,1	1	50	0	0	0,039*
	Adulto	2	50	12	52,2	10	55,6	0	0	2	40	
	Adolescente	0	0	3	13	0	0	0	0	0	0	
	Criança	0	0	0	0	1	5,6	1	50	0	0	
	Lactente	0	0	4	17,4	5	27,8	0	0	3	60	
	<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>100</b>	<b>23</b>	<b>100</b>	<b>18</b>	<b>100,1</b>	<b>2</b>	<b>100</b>	<b>5</b>	<b>100</b>	

<sup>1</sup> Calculado conforme a estatística  $\chi^2$ ; \* Diferença estatística.

A *E. coli* não tipificada foi reconhecida em 1 caso em 2012 e igualmente no ano de 2013, já no ano de 2014 foi identificado 1 caso a mais que nos dois anos anteriores. No que diz respeito a *E. coli clássica polivalente A ou B*, 2 casos foram positivos em 2014, 3 casos em 2012 e um grande aumento foi observado em 2014 mostrando 13 casos positivos. Em relação a *Salmonella entérica*, a maior porcentagem de registros de casos também ocorreu no ano de 2013. No entanto, não houve associação estatística relevante entre os resultados positivos de coprocultura e o ano ( $P = 0,358$ ).

No que se refere ao sexo em comparação a bactéria patogênica, foi constatado 2 casos positivos tanto no sexo masculino quanto no sexo feminino por *E. coli* não tipificada. Em relação a *E. coli* do sorotipo O157, somente houve casos positivos em pacientes do sexo masculino. As coproculturas positivas devido à presença de *Salmonella entérica* mostrou 3 casos em mulheres e 2 casos positivos em homens.

A diferença entre os casos do sexo feminino e do sexo masculino revelaram 13 casos de *E. coli* clássica no sexo masculino e 10 no sexo feminino e por *E. coli* clássica polivalente A ou B, cerca de 10 casos foram identificados em homens e 8 casos em mulheres, não apresentando diferença significativa. Assim, com relação ao sexo e os resultados positivos de coprocultura, não houve associação estatística relevante ( $P=0,708$ ).

Considerando a presença das bactérias distribuídas por faixa de idade é possível observar uma maior contaminação em adultos. A *E. coli* clássica contaminou 12 (52,2%) adultos mostrando ser a bactéria prevalente nesta faixa etária. A faixa de idade em que não houve registros de casos de *E. coli* clássica foram as crianças, porém em lactentes houve 4 (17,4%) registros, em idosos também houve 4 (17,4%) registros e em adolescente 3 (13,0%) registros.

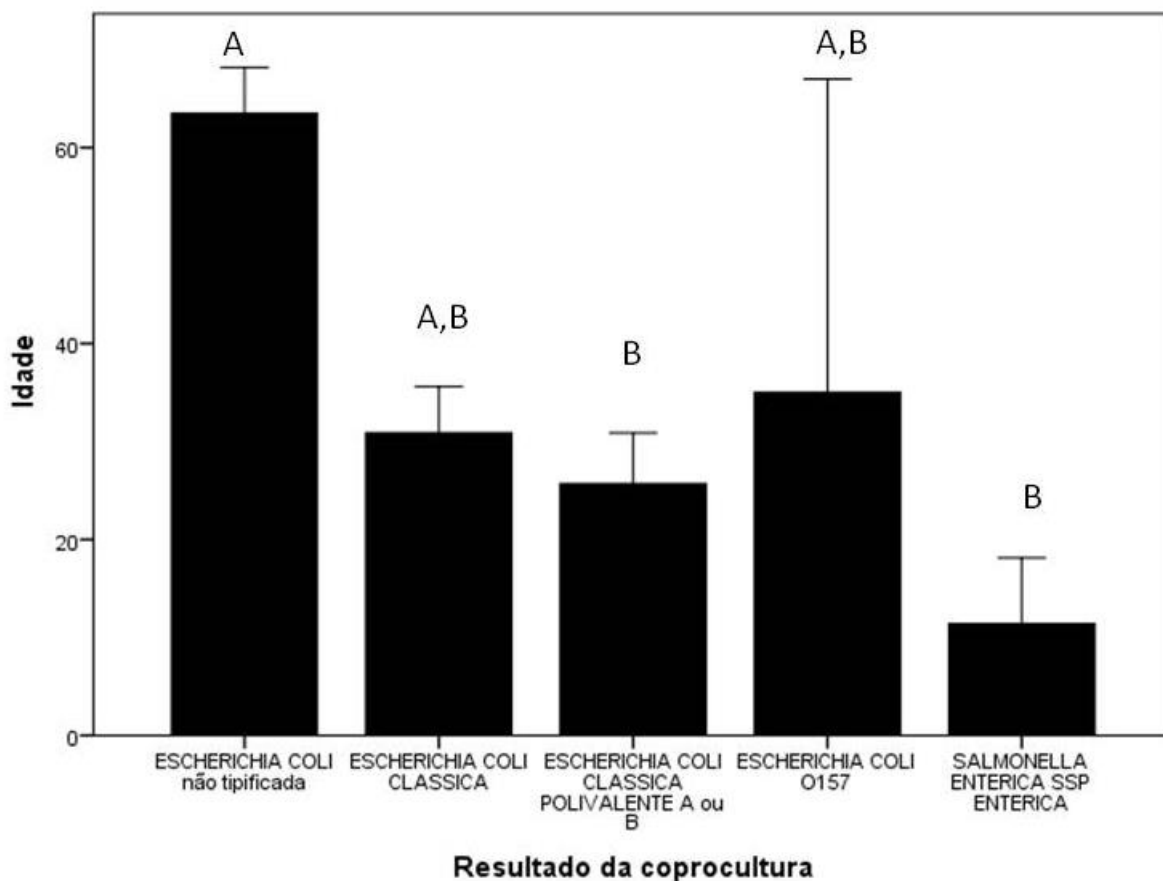
A *E. coli* clássica polivalente A ou B foi a segunda bactéria responsável pela grande contaminação em adultos. A quantidade de pessoas contaminadas por faixa de idade foi de 10 (55,6%) adultos contaminados, 5 (27,8%) lactentes, 2 (11,1%) idosos, 1 criança (5,6%) e nenhum adolescente.

A *E. coli* não tipificada contaminou apenas 4 pessoas, onde 2 (50,0%) eram idosos e 2 (50,0%) eram adultos não mostrando estar presente nas outras faixas de idade. O sorotipo O157 de *E. coli* também contaminou 2 faixas de idade, 1 (50,0%) idoso e 1 (50,0%) criança e nas demais faixas não houve casos.

Além da bactéria *E. coli*, casos de *Salmonella* também foram identificados na distribuição por faixa, mostrando uma maior presença de lactentes o qual 3 (60,0%) destes foram contaminados com *Salmonella* e 2 (60,0%) adultos contaminados. Casos de salmonelose não foram registrados em outras faixas de idade. Os dados de distribuição por idade em relação aos resultados positivos mostraram uma associação estatística significativa ( $P = 0,039$ ).

O gráfico 1 mostra a distribuição das idades dos pacientes agrupados conforme o resultado da coprocultura. Foi possível identificar que os pacientes portadores de *S. entérica* eram mais jovens que os pacientes contaminados por *E. coli*, e a média de idade deste grupo era 11,40 anos ( $\pm 6,728$ ).

Gráfico 1: Distribuição da média das idades dos pacientes conforme o resultado positivo da coprocultura. Rede privada de saúde – Distrito Federal, 2012 a 2014\*.



\*As barras de erro representam o erro padrão da média. Letras diferentes representam diferença estatística, conforme o pós teste de Tukey da ANOVA.

## 6 DISCUSSÃO

Nesse estudo percebeu-se uma baixa frequência de resultados positivos em uma amostra de 12.715 exames realizados. A *E. coli clássica* foi o patógeno mais frequente associado a gastroenterite aguda.

Segundo Oliva et al. (1997), a diarreia aguda associada a *E. coli enteropatogênica clássica* afeta mais usualmente lactentes hospitalizados do sexo masculino, mas no que se refere a complicações e/ ou mortalidade não há diferença entre gênero.

É evidenciado nesse presente estudo que o sexo masculino expôs mais resultados positivos em comparação ao sexo feminino em indivíduos contaminados por *E. coli clássica*. O número de pacientes do sexo masculino infectados por *E. coli clássica* inclui todas as faixas etárias e além disso, há uma maior chance de serem pacientes advindos da comunidade devido aos locais de atendimento ambulatorial das unidades de atendimento da rede privada de saúde. Vale ressaltar que a *E. coli enteropatogênica clássica*, esteve presente, nesse estudo, em maior número nos pacientes adultos do que em crianças.

Uma análise realizada em fezes de crianças para a sorotipagem trivalente (O111, O55, O26) de EPEC mostrou que todos os infectados por EPEC eram em crianças do sexo masculino (Behiry et al., 2012). Nesse trabalho é possível observar que o sexo masculino também esteve presente em maior quantidade ao analisarmos os resultados de *E. coli* polivalente A ou B, porém a maior frequência de resultados positivos eram equivalentes a adultos.

Nesse trabalho a sorotipagem polivalente A corresponde a O111, O55, O26 e O119, mostrando apenas 1 sorotipo a mais do que aqueles presentes na análise de Behiry et al. (2012). Os resultados desse estudo associam os resultados das sorotipagens polivalentes A e B as quais estão presentes outros sorotipos. Porém, como demonstrado no estudo, pode ter ocorrido um aumento dos resultados no sexo masculino devido à proximidade dos sorotipos desse trabalho com a análise demonstrada mesmo que nesse trabalho os resultados estejam associados a sorotipagem polivalente B.

Entre os antígenos O de *E. coli*, os sorotipos mais comuns isolados entre o ano de 1983 e 2002 nos Estados Unidos foram 026 (22%), 0111 (16%), 0103 (12%), 0121 (8%), 045 (7%) e 0145 (5%). As amostras foram enviadas ao Centro de Controle de Doenças (CDC) vindas de 43 estados (Appleman et al., 2008). É observado novamente a importância dos sorotipos que nesse estudo se enquadravam no sorotipo polivalente A, justificando assim a grande quantidade de resultados positivos.

Com relação a espécie *Shigella* sp, normalmente os casos de shigelose podem estar mais associados aos pacientes nosocomiais. Em um estudo realizado no estado do Ceará, houve uma alta frequência do patógeno *Shigella flexneri* isolado por meio de coprocultura em pacientes que adquiriram diarreia após a internação (Mesquita et al., 2010).

No presente trabalho não foi isolada *Shigella spp.* em nenhuma amostra apesar da rotina para a realização das coproculturas seguir o protocolo para identificação dessa espécie. A ausência de *Shigella spp.* pode ter ocorrido devido ao perfil de atendimento da rede privada de saúde, o qual atende em maior número amostras decorridas da comunidade em comparação com as amostras de pacientes que estão em ambiente hospitalar.

Já os resultados positivos para *S. entérica spp* mostraram que dos cinco resultados positivos, três eram lactentes. A presença de *Salmonella spp.* em lactentes e recém-nascidos pode ser evidenciada na literatura. A gastroenterite em recém-nascido é demonstrada no estudo de Ferreira et al. (2007) em que foi observado sintomas de gastroenterite no primeiro dia de vida do recém-nascido e a posterior confirmação da doença, via coprocultura.

Em outro estudo com crianças, foi mostrado que elas apresentavam gastroenterite causada por *Salmonella não tifoide*, a maior frequência foi evidenciada em lactentes e um maior número de casos foi registrado no período do verão (Pignatelli et al., 2014). Através do estudo de Pignatelli et al. (2014), percebe-se que a estação do ano pode ser um fator de influência para o desenvolvimento de *Salmonella*, pois os resultados de *Salmonella* podem ser mais proeminentes em determinada época do ano, a estação do ano pode ter favorecido o aparecimento dos 5 casos de *Salmonella*, pois este trabalho foi realizado com resultados de 2



anos. Além disso, o presente trabalho apresentou maiores resultados na faixa de idade de lactentes, em comparação com as outras faixas de idade.

Em Santa Catarina, Da Silva et al. (2003) realizou um estudo que os resultados de cultura bacteriana expôs que a *E. coli* esteve presente em maior número em comparação a *Salmonella* e *Shigella*, as quais não apresentaram nenhum resultado positivo em crianças de 0 a 5 anos. Pode-se observar assim, que estudos realizados no Brasil têm demonstrado que, entre as bactérias, a *E. coli* exibe o maior número de contaminações, evidenciando a coerência do presente estudo com o perfil apresentado por estudos brasileiros.

Em contrapartida, a *Salmonella* foi encontrada predominantemente em pacientes com gastroenterite bacteriana em Portugal (Rodrigues et al., 2007). O mesmo é evidenciado nos Estados Unidos, o qual a cultura de fezes em pacientes com gastroenterite se apresentaram positivas para *Salmonella* sem a ocorrência de casos de *E. coli* (Bresee et al., 2012).

Os estudos de Portugal e Estados Unidos demonstram o contrário que é apresentado no estudo do Brasil. Apesar dessa diferença de contaminações por bactérias nesses países, os estudos também comparam gastroenterites causadas por vírus e bactérias e expõem que essas infecções ocorrem principalmente por vírus (Da Silva et al., 2003; Rodrigues et al., 2007; Bresee et al., 2012). O rotavírus foi o principal agente viral isolado tanto no estudo brasileiro quanto no português (Da Silva et al., 2003; Rodrigues et al., 2007).

O cenário de gastroenterite viral por rotavírus tem mostrado estar em processo de mudança devido à introdução da vacina para esse agente etiológico (Dulgheroff et al., 2014). A análise viral não foi realizada nesse estudo, mas apesar de não ter sido avaliado o perfil das infecções causadoras de gastroenterite viral, vale resaltar que esses agentes são de extrema importância neste tipo de patologia.

Com relação a *E. coli*, que foi a bactéria mais frequente neste estudo, é possível verificar de acordo com Aggarwal et al. (2013) uma alta presença de *E. coli* causadora de diarreia em crianças com idade inferior a 5 anos. A *E. coli* enteropatogênica (EPEC) foi a mais incidente, seguida por *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) apresentando menor frequência (Aggarwal et al., 2013).

Esse fato também é evidenciado no estudo de Souza et al. (2003) aonde foram analisadas 105 amostras de bactérias isoladas em crianças com idade inferior

a 5 anos do estado de São Paulo, sendo que 90 correspondiam a *E. coli* e dessas, 27 eram EPEC, 24 DAEC, 21 ETEC E 18 EAEC. O que apresenta uma coerência com o que foi mostrado nos resultados desse trabalho, em que considerando a faixa de lactentes e crianças, o sorotipo de *E. coli* que apresentou maior frequência foi a *E. coli enteropatogênica* (EPEC) e a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) correspondeu a apenas um caso.

Shetty et al. (2012) também analisou a frequência de *E. coli* diarreiogênica em uma população de adultos e crianças e observou que a frequência de EPEC continuou mais elevada em comparação com os outros subtipos de *E. coli*. No presente estudo, a EPEC esteve mais presente em adultos do que as outras cepas (de acordo com a tabela 2). Já em crianças, a frequência foi baixa permanecendo igual entre *E. coli* clássica polivalente A ou B e *E. coli* O157.

Adultos saudáveis infectados com EPEC, EAEC e ETEC foram relatados no estudo de Newman et al (2010). Foi demonstrado que a *E. coli* difusamente aderente (DAEC) foi a única que esteve presente apenas em pacientes o qual apresentavam sintomas.

Durante 9 anos e meio crianças que tinham sido contaminadas por *E. coli* O157:H7 foram acompanhadas no estudo de Wong et al. (2012). De 259 crianças analisadas, 36 desenvolveram a síndrome hemolítico-urêmica (SHU) e apesar do uso de antibióticos durante a fase da doença, ainda assim, a SHU foi desencadeada. No presente trabalho apenas 2 resultados foram observados em pacientes com o sorotipo O157, sendo que 1 deles foi identificado em criança. O estudo mostra a importância da detecção desse sorotipo, pois quanto menor frequência deste tipo de *E. coli* no Distrito Federal, menor a chance de uma alta contaminação por *E. coli* O157:H7 em crianças e do desenvolvimento de SHU.

No Reino Unido surtos foram relatados associados à locais de venda de carnes e também ao consumo de leite. Surtos de *E. coli* O 157 considerados de grande importância levou ao surgimento de políticas de segurança alimentar no Reino Unido, isso gerou uma extensa melhora no controle de infecções por *E. coli* O157 e uma melhora na qualidade de vida (Pennington et al., 2014).

Por meio da literatura, é possível observar que a grande causa de surtos de *E. coli* O157 provém de alimentos. Como o número de resultados positivos para essa cepa foi relativamente baixa, podemos inferir uma baixa frequência de

contaminação alimentar em grande escala por *E. coli* O157 nesse período do estudo.

Um estudo desenvolvido por Mashoto et al. (2014) mostrou a importância da informação da lavagem das mãos e o conhecimento das causas de diarreia. A maioria dos entrevistados domésticos tinham conhecimentos insuficientes sobre esses assuntos (Mashoto et al., 2014). O estado de São Paulo disponibiliza orientações para ações de vigilância epidemiológica, o qual apresenta informações sobre infecções por água e alimentos (SÃO PAULO, 2007). A forma simples de evitar o contágio da infecção pode ser um fator que influenciou a baixa frequência de resultados positivos no presente estudo, visto que as amostras analisadas foram provenientes do maior laboratório particular do Distrito Federal. E ainda, como já descrito, o perfil destes pacientes é ambulatorial.

## **7 CONCLUSÃO**

Concluimos que as principais bactérias causadoras de gastroenterite no Distrito Federal foram *Salmonella* e *Escherichia coli*, a qual *E. coli* foi predominante na positividade dos resultados e ainda não houve contaminações por *Shigella* sp. A quantidade de resultados positivos do sexo masculino foi maior que do sexo feminino.

A faixa de idade apresentou uma relação estatística com os resultados positivos, os adultos foram a faixa de idade com maior frequência de contaminação por enterobactérias.

As cepas de *E. coli* presentes no Distrito Federal foram a *E. coli* enteropatogênica clássica e *E. coli* clássica polivalente, provenientes dos sorogrupos 026, 055, 0111, 0119, 0114, 0125, 0142 ou 0158. A *E. coli* O157 também mostrou infecções em pacientes porém em baixo número ou menor frequência, provavelmente devido ao perfil dos pacientes analisados.

Assim, é evidenciado a importância desse trabalho para a população do Distrito Federal, onde conhecendo melhor a frequência de bactérias causadoras de gastroenterite, medidas de prevenção podem ser implantadas para que tenha uma redução ainda maior dos registros de casos, aumentar a informação sobre as questões de forma de contaminação, rastrear os casos de *E. coli* O157 para evitar surtos e melhorar do saneamento básico para regiões do Distrito Federal.

## 8 REFERÊNCIAS

ABU ELAMREEN, F. H.; ABED, A. A.; SHARIF, F. A. Detection and identification of bacterial enteropathogens by polymerase chain reaction and conventional techniques in childhood acute gastroenteritis in Gaza, Palestine. **Int J Infect Dis**, v. 11, n. 6, p. 501-7, 2007.

AGGARWAL, P.; UPPAL, B.; GHOSH, R. et al. Highly-resistant *E. coli* as a common cause of paediatric diarrhoea in India. **Journal of health, population, and nutrition**, v. 31, n. 3, p. 409, 2013.

AHMED, M. O.; ABOUZEED, Y. M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: a survey of dairy cattle in Tripoli, Libya. **Libyan J Med**, v. 9, p. 24409, 2014.

AMISANO, G.; FORNASERO, S.; MIGLIARETTI, G. et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* in acute gastroenteritis in infants in North-West Italy. **New Microbiol**, v. 34, n. 1, p. 45-51, 2011.

APPLEMAN, S. S.; ASCHER, D.; PARK, C. Clinical spectrum of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in adults and children. **Clinical pediatrics**, v. 48 p. 99-102, 2008.

BEHIRY, I. K.; ABADA, E. A.; AHMED, E. A. et al. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children in Cairo, Egypt. **The Scientific World Journal**, v. 11, p. 2613-2619, 2012.

BIBBAL, D.; LOUKIADIS, E.; KÉROURÉDAN, M. et al. Intimin gene (*eae*) subtype-based real-time PCR strategy for specific detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8, and O145:H28 in cattle feces. **Appl Environ Microbiol**, v. 80, n. 3, p. 1177-84, 2014.

BLANCO, M.; SCHUMACHER, S.; TASARA, T. et al. Serotypes, intimin variants and other virulence factors of *eae* positive *Escherichia coli* strains isolated from healthy cattle in Switzerland. Identification of a new intimin variant gene (*eae-η2*). **BMC microbiology**, v. 5, n. 1, p. 23, 2005.

BONO, J. L.; SMITH, T. P.; KEEN, J. E. et al. Phylogeny of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 isolated from cattle and clinically ill humans. **Molecular biology and evolution**, v. 29, n. 8, p. 2047-2062, 2012.

BORROWS, C. L.; TURNER, P. C. Seasonal screening for viral gastroenteritis in young children and elderly hospitalized patients: is it worthwhile? **J Hosp Infect**, v. 87, n. 2, p. 98-102, 2014.

BRAEYE, T.; SCHRIJVER K.; WOLLANTS, E. et al. A large community outbreak of gastroenteritis associated with consumption of drinking water contaminated by river water, Belgium, 2010. **Epidemiol Infect**, p. 1-9, 2014.

BRESEE, J. S.; MARCUS, R.; VENEZIA, R. A. et al. The etiology of severe acute gastroenteritis among adults visiting emergency departments in the United States. **Journal of Infectious Diseases**, v. 205, n. 9, p. 1374-1381, 2012.

BRASIL, Ministério da Saúde. DATASUS [Internet]. Informações de Saúde. Estatísticas vitais. Mortalidade - 1996 a 2011, pela CID-10. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2014. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10DF.def>>.

BRASIL, Ministério da Saúde. DATASUS [Internet]. Informações de Saúde. Epidemiológicas e Morbidade. Morbidade Hospitalar do SUS, geral por local de internação - a partir de 2008. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2014. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niDF.def>>.

CHHABRA, P.; PAYNE, D. C.; SZILAGYI, P. G. et al. Etiology of viral gastroenteritis in children <5 years of age in the United States, 2008-2009. **J Infect Dis**, v. 208, n. 5, p. 790-800, 2013.

CLARK, W. F.; SONTROP, J. M.; MACNAB, J. J. et al. Long term risk for hypertension, renal impairment, and cardiovascular disease after gastroenteritis from drinking water contaminated with *Escherichia coli* O157:H7: a prospective cohort study. **BMJ**, v. 341, p. c6020, 2010.

CONRAD, D.; DEE, K.; KEENAN, A. et al. The role of household transmission in an outbreak of viral gastroenteritis in a primary school in Liverpool, England. **Public Health**, v. 127, n. 9, p. 882-4, 2013.

CORCORAN, M. S.; VAN WELL, G. T.; VAN LOO, I. H. Diagnosis of viral gastroenteritis in children: interpretation of real-time PCR results and relation to clinical symptoms. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 33, p. 1663-73, 2014.

COUTURIER, M. R.; LEE, B.; ZELYAS, N. et al. Shiga-toxigenic *Escherichia coli* detection in stool samples screened for viral gastroenteritis in Alberta, Canada. **J Clin Microbiol**, v. 49, n. 2, p. 574-8, 2011.

DA SILVA, L. S. M.; BAILLARGEON, C. M. M.; BARICHELLO, T. et al. Enteropatógenos associados com diarreia infantil (< 5 anos de idade) em amostra da população da área metropolitana de Criciúma, Santa Catarina, Brasil. Enteropathogens associated with diarrheal. **Cad. Saúde Pública**, v. 19, n. 4, p. 1205-1208, 2003.

DAS, S. K.; CHISTI, M. J.; AFRAD, M. H. et al. Gastroenteritis due to typhoidal *Salmonella*: a decade of observation at an urban and a rural diarrheal disease hospital in Bangladesh. **BMC Infect Dis**, v. 14, p. 435, 2014.

DONG, T.; SCHELLHORN, H. E. Global effect of RpoS on gene expression in pathogenic *Escherichia coli* O157: H7 strain EDL933. **BMC genomics**, v. 10, n. 1, p. 349, 2009.

DULGHEROFF, A. C. B.; FIGUEIREDO, E. F.; GOUVÊA, V. S. et al. Changes in epidemiology of rotavirus in the Triângulo Mineiro region of Brazil: lack of two consecutive rotavirus seasons. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n. AHEAD, p. 01-05, 2014.

EPPINGER, M.; MAMMEL, M. K.; LECLERC, J. E. et al. Genomic anatomy of *Escherichia coli* O157: H7 outbreaks. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 50, p. 20142-20147, 2011.

EZEONWU, B. U.; IBENEME, C. A.; ANEKE, F. et al. Clinical features of acute gastroenteritis in children at university of Nigeria teaching hospital, ituku-ozalla, enugu. **Ann Med Health Sci Res**, v. 3, n. 3, p. 361-4, 2013.

FERREIRA, E.; JOÃO, A.; FERRAZ, L. Gastroenterite por *Salmonella* em recém-nascido. **Revista Nascer e Crescer**, v. 16, n. 3, p. 128-29, 2007.

GAL-MOR, O.; BOYLE, E. C.; GRASSL, G. A. Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella* enterica serovars differ. **Front Microbiol**, v. 5, p. 391, 2014.

GRAVES N. S. Acutes Gastroenteritis. **Prim Care Clin Office Pract**, v. 40 n.3, p. 727-41, 2013.

GORDILLO, R.; RODRIGUEZ, A.; WERNING, M. L. et al. Quantification of viable *Escherichia coli* O157:H7 in meat products by duplex real-time PCR assays. **Meat Sci**, v. 96, n. 2 Pt A, p. 964-70, 2014.

HALL, A. J.; CURNS, A. T.; MCDONALD, L. C. et al. The roles of *Clostridium difficile* and norovirus among gastroenteritis-associated deaths in the United States, 1999-2007. **Clin Infect Dis**, v. 55, n. 2, p. 216-23, 2012.

HANSEN, A. M.; CHAERKADY, R.; SHARMA, J. et al. The *Escherichia coli* phosphotyrosine proteome relates to core pathways and virulence. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 6, p. e1003403, 2013.

HARTLAND, E. L.; BATCHELOR, M.; DELAHAY, R. M. et al. Binding of intimin from enteropathogenic *Escherichia coli* to Tir and to host cells. **Molecular microbiology**, v. 32, n. 1, p. 151-158, 1999.



HIZO-ABES, P.; CLARK, W. F.; SONTROP, J. M. et al. Cardiovascular disease after *Escherichia coli* O157: H7 gastroenteritis. **Canadian Medical Association Journal**, v. 185, n. 1, p. E70-E77, 2013.

IJIMA, Y.; TANAKA, S.; MIKI, K. et al. Evaluation of colony-based examinations of diarrheagenic *Escherichia coli* in stool specimens: low probability of detection because of low concentrations, particularly during the early stage of gastroenteritis. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 58, n. 3, p. 303-8, 2007.

Ince, O. T.; Yalcin, S. S.; Yurdakok, K. et al. *Salmonella* gastroenteritis in children (clinical characteristics and antibiotic susceptibility): comparison of the years 1995-2001 and 2002-2008. **Turk J Pediatr**, v. 54, n. 5, p. 465-73, 2012.

ISLAM, M. S.; SHAW, R. K.; FRANKEL, G. et al. Translation of a minigene in the 5' leader sequence of the enterohaemorrhagic *Escherichia coli* LEE1 transcription unit affects expression of the neighbouring downstream gene. **Biochem J**, v. 441, n. 1, p. 247-53, 2012.

JEONG, K. I.; ZHANG, Q.; NUNNARI, J. et al. A piglet model of acute gastroenteritis induced by *Shigella dysenteriae* Type 1. **J Infect Dis**, v. 201, n. 6, p. 903-11, 2010.

KITAGAWA, R.; TAKAYA, A.; YAMAMOTO, T. Dual regulatory pathways of flagellar gene expression by ClpXP protease in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. **Microbiology**, v. 157, n. Pt 11, p. 3094-103, 2011.

KOZIEL, M.; KIELY, R.; BLAKE, L. et al. Improved detection of bacterial pathogens in patients presenting with gastroenteritis by use of the EntericBio real-time Gastro Panel I assay. **J Clin Microbiol**, v. 51, n. 8, p. 2679-85, 2013.

KUO, H. W.; KASPER, S.; JELOVCAN, S. et al. A food-borne outbreak of *Shigella sonnei* gastroenteritis, Austria, 2008. **Wien Klin Wochenschr**, v. 121, n. 3-4, p. 157-63, 2009.

LEE, R. M.; LESSLER, J.; LEE, R. A. et al. Incubation periods of viral gastroenteritis: a systematic review. **BMC Infect Dis**, v. 13, p. 446, 2013.

LUCHS A.; MORILLO S. G.; RIBEIRO C. D. et al. Rotavirus G2P[4] and G2P[4]+[6] infections during norovirus gastroenteritis outbreak: summer season 2010, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 46, n. 2, p. 227-30, 2013.

MAINIL, J. G.; BARDIAU, M.; OOKA, T. et al. Typing of O26 enterohaemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from humans and cattle with IS621 multiplex PCR-based fingerprinting. **J Appl Microbiol**, v. 111, n. 3, p. 773-86, 2011.

MASHOTO, K. O.; MALEBO, H. M.; MSISIRI, E. et al. Prevalence, one week incidence and knowledge on causes of diarrhea: household survey of under-fives and adults in Mkuranga district, Tanzania. **BMC public health**, v. 14, n. 1, p. 985, 2014.

MESQUITA, A. M. R. C.; LIMA, N. L.; LIMA, A. A. M. Avaliação da susceptibilidade e resistência antimicrobiana de cepas de *Shigella* spp. isoladas de pacientes com diarréia nosocomial. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 8, n. 3, p. 292-300, 2010.

NAKAGOMI, T.; CORREIA, J. B.; NAKAGOMI, O. et al. Norovirus infection among children with acute gastroenteritis in Recife, Brazil: disease severity is comparable to rotavirus gastroenteritis. **Arch Virol**, v. 153, n. 5, p. 957-60, 2008.

NEWMAN, M. J.; OPINTAN, J. A.; BISHAR, R. A. et al. Carriage of diarrhoeagenic *Escherichia coli* by older children and adults in Accra, Ghana. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 104, n. 7, 2010.

NGWA, G. A.; SCHOP, R.; WEIR, S. et al. Detection and enumeration of *E. coli* O157: H7 in water samples by culture and molecular methods. **Journal of microbiological methods**, v. 92, n. 2, p. 164-172, 2013.

OLIVA, C. A. G.; SCALETSKY, I.; DE MORAIS, M. B. et al. Diarréia aguda grave associada à *Escherichia coli* enteropatogênica clássica (EPEC): características clínicas e perdas fecais em lactentes hospitalizados. **Rev Ass Med Brasil**, v. 43, n. 4, p. 283-289, 1997.

PARK, S. H. et al. Improved selective and differential medium for isolation of *Escherichia coli* O157: H7. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 1, p. 405-408, 2011.

PARK, S. H.; RYU, S.; KANG, D. H. A retrospective study of secondary bacteraemia in hospitalised adults with community acquired non-typhoidal *Salmonella* gastroenteritis. **BMC Infect Dis**, v. 13, p. 107, 2013.

PENNINGTON, T. H. *E. coli* O157 outbreaks in the United Kingdom: past, present, and future. **Infection and drug resistance**, v. 7, p. 211, 2014.

PIGNATELLI, D.; LEAL, E.; LITO, D. et al. Gastroenterite Aguda por *Salmonella* não Tifóide em Crianças: revisão de dez anos. **Acta Pediatr Port**, v.45 p. 204-09, 2014.

SÃO PAULO, PREFEITURA DO MUNICIPAL. Orientações para ações de vigilância epidemiológica. São Paulo 2007. Disponível em: <[http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/orientacoes\\_acoes\\_vig-epidemio\\_1254753024.pdf](http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/orientacoes_acoes_vig-epidemio_1254753024.pdf)>

RODRIGUES, F.; ALVES, M. C.; ALVES, A. F. et al. Etiologia das gastroenterites agudas em Unidade de Internamento de Curta Duração: estudo prospectivo de 12 meses. **Acta Pediatr Port**, v. 38, p. 13-17, 2007.

SEN, K.; L. SINCLAIR, J.; BOCZEK, L. et al. Development of a sensitive detection method for stressed *E. coli* O157: H7 in source and finished drinking water by culture-qPCR. **Environmental science & technology**, v. 45, n. 6, p. 2250-2256, 2011.

SHETTY, V. A.; KUMAR, S. H.; SHETTY, A. K. et al. Prevalence and characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from adults and children in Mangalore, India. **Journal of laboratory physicians**, v. 4, n. 1, p. 24, 2012.

SILVA, L. E.; SOUZA, T. B.; SILVA, N. P. et al. Detection and genetic analysis of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin (EAST1) gene in clinical isolates of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) strains. **BMC Microbiol**, v. 14, p. 135, 2014.

SHOJA, Z.; JALILVAND, S.; MOLLAEI-KANDELOUS, Y. et al. Epidemiology of viral gastroenteritis in Iran. **Pediatr Infect Dis J**, v. 33, n. 2, p. 218-20, 2014.

SO, C. W.; KIM, D. S.; YU, S. T. et al. Acute viral gastroenteritis in children hospitalized in Iksan, Korea during December 2010-June 2011. **Korean J Pediatr**, v. 56, n. 9, p. 383-8, 2013.

SOUZA, E. C.; MARTINEZ, M. B.; TADDEI, C. R. et al. Perfil etiológico das diarreias agudas de crianças atendidas em São Paulo. **J Pediatr (Rio J)**, v. 78, n. 1, p. 31-38, 2002

SPERANDIO, V.; MELLIES, J. L.; DELAHAY, R. M. et al. Activation of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) LEE2 and LEE3 operons by Ler. **Molecular microbiology**, v. 38, n. 4, p. 781-793, 2000.

SUO, B.; WANG, Y. Evaluation of a multiplex selective enrichment broth SEL for simultaneous detection of injured *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. **Braz J Microbiol**, v. 44, n. 3, p. 737-42, 2013.

THEVENOT, J.; ETIENNE-MESMIN, L.; DENIS, S. et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 survival in an in vitro model of the human large intestine and interactions with probiotic yeasts and resident microbiota. **Applied and environmental microbiology**, v. 79, n. 3, p. 1058-64, 2013.

TYLER, J. S.; BEERI, K.; REYNOLDS, J. L. et al. Prophage induction is enhanced and required for renal disease and lethality in an EHEC mouse model. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 3, p. e1003236, 2013.

YANG, K.; PAGALING, E.; YAN, T. Estimating the prevalence of potential enteropathogenic *Escherichia coli* and intimin gene diversity in a human community by monitoring sanitary sewage. **Appl Environ Microbiol**, v. 80, n. 1, p. 119-27, 2014.

YIN, X.; FENG, Y.; WHEATCROFT, R. et al. Adherence of *Escherichia coli* O157: H7 to epithelial cells in vitro and in pig gut loops is affected by bacterial culture conditions. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 75, n. 2, p. 81, 2011.

WANG, L.; LI, Y.; MUSTAPHA, A. Detection of viable *Escherichia coli* O157:H7 by ethidium monoazide real-time PCR. **J Appl Microbiol**, v. 107, n. 5, p. 1719-28, 2009.

WONG, C. S.; MOONEY, J. C.; BRANDT, J. R. et al. Risk factors for the hemolytic uremic syndrome in children infected with *Escherichia coli* O157: H7: a multivariable analysis. **Clinical infectious diseases**, p. cis299, 2012

ZUMBRUN, S. D.; MELTON-CELSA, A. R.; SMITH, M. A. et al. Dietary choice affects Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O157: H7 colonization and disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 23, p. E2126-E2133, 2013.

## 9.1 Anexo I



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA  
SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE  
BRASÍLIA - CEP/FS-UNB



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Análise dos principais microrganismos causadores de gastroenterites no Distrito Federal

**Pesquisador:** Thaís Alves da Costa Lamounier

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 31843414.6.0000.0030

**Instituição Proponente:** Faculdade de Ceilândia - FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**Patrocinador Principal:** LABORATORIO SABIN DE ANALISES CLINICAS LTDA

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 788.271

**Data da Relatoria:** 10/09/2014

#### **Apresentação do Projeto:**

Parecer Consubstanciado

PROGRAMA DE GRADUAÇÃO – FARMÁCIA – CAMPUS CEILÂNDIA (FCE)

Análise dos principais microrganismos causadores de gastroenterites no Distrito Federal



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA  
SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE  
BRASÍLIA - CEP/FS-UNB



Continuação do Parecer: 788.271

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

As pendências foram atendidas: O TCLE foi adequado e o TALE apresentado.

O projeto se encontra em conformidade com a Resolução 466/12 e suas complementares.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em acordo com a Resolução 466/12 CNS, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

BRASILIA, 11 de Setembro de 2014

---

**Assinado por:**  
**Marie Togashi**  
**(Coordenador)**