

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Júlia Ramos Köche Demarchi

**Colonização Intestinal por Bacilos Gram-Negativos Multirresistentes e
Enterococcus spp. Resistentes à Vancomicina em Cães Acolhidos em Abrigo
de Florianópolis**

**Florianópolis
2023**

Júlia Ramos Köche Demarchi

**Colonização Intestinal por Bacilos Gram-Negativos Multirresistentes e
Enterococcus spp. Resistentes à Vancomicina em Cães Acolhidos em Abrigo
de Florianópolis**

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a conclusão da Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Cleonice Maria Michelon

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra

Demarchi, Júlia Ramos Köche
Colonização Intestinal por Bacilos Gram-Negativos
Multirresistentes e Enterococcus spp. Resistentes à Vancomicina
em Cães Acolhidos em Abrigo de Florianópolis / Júlia Ramos Köche
Demarchi ; orientadora, Cleonice Maria Michelin, 2023.
68 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde,
Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Resistência antimicrobiana. 3. Cães. I.
Michelin, Cleonice Maria. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Júlia Ramos Köche Demarchi

**Colonização Intestinal por Bacilos Gram-Negativos Multirresistentes e
Enterococcus spp. Resistentes à Vancomicina em Cães Acolhidos em Abrigo
de Florianópolis**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Colonização Intestinal por Bacilos Gram-Negativos Multirresistentes e *Enterococcus* spp. em Cães Acolhidos em Abrigo de Florianópolis” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Florianópolis, 28 de novembro de 2023.

Prof. Me. Valdecir Maria Laura
Coordenador do Curso de Farmácia

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a. Cleonice Maria Michelon
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a. Jussara Kasuko Palmeiro
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a. Mara Cristina Scheffer
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedicado a todos que
acompanharam minha vida acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus pais que me deram toda a base necessária para poder chegar até aqui, em conhecimentos, valores e estrutura para uma melhor formação.

Ao meu irmão, por ser sempre um apoio e referência e, junto com a minha cunhada, compartilhando momentos especiais e sendo ouvidos quando algumas coisas ficavam mais difíceis.

Meu tio, Nazareno, e minha madrinha, por serem referências e suporte na cidade.

À minha orientadora, Cleonice, por me apresentar o projeto.

À Cris, pelos aprendizados do que acontece por trás do laboratório, além de todo o apoio para a realização desse trabalho.

À Paloma, que foi peça essencial para a concretização da parte prática.

À banca, Mara e Jussara, que são grandes referências profissionais.

À minha dupla de estágio, Monique, compartilhar dos estresses do final do curso, sempre apoiando, mesmo de longe.

Ao Júliaverso, que aconteceu na reta final dessa trajetória. Júlia, minha gêmea perdida, por sempre trazer alegria e entretenimento nos momentos que passamos juntas. E Júlia, minha namorada, que foi peça fundamental para a conclusão do presente trabalho, sendo apoio em todas as dificuldades e angústias durante este período. E a não Júlia, Chris, por estar presente nessa etapa final, sendo diversão e apoio para lapidar a apresentação.

Ao laboratório de Microbiologia do HU, para que provas complementares pudessem ser realizadas e ajudar na conclusão desta pesquisa.

E os demais profissionais e instituições que fizeram parte desta pesquisa.

Por fim, a Universidade Federal de Santa Catarina que, além de conhecimento teórico/prático agregado, proporcionou um aprendizado de sociedade e humanidade.

RESUMO

A resistência antimicrobiana (RAM) representa uma ameaça global crescente, entretanto, o papel dos animais domésticos nessa problemática é uma discussão recente. Dentro desse contexto, este estudo teve como objetivo principal de investigar a colonização intestinal por bacilos gram-negativos multirresistentes e *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina, a partir de *swabs* retais de cães acolhidos em abrigo do município de Florianópolis-SC, e identificar fatores de risco e elaborar medidas para evitar a colonização por essas bactérias. Foram coletadas 148 amostras, em que 2 *Escherichia coli* produtoras de ESBL, um *Enterococcus faecalis* e um *Enterococcus casseliflavus* com resistência à vancomicina, 2 *Pseudomonas aeruginosa* e uma *Pseudomonas putida*, sendo essa resistente tanto a meropenem quanto a imipenem, entretanto nenhuma carbapenemase foi detectada. Isolamento foi feito a partir de uma pressão inicial com ceftriaxona 2 mg/L para as gram-negativas e vancomicina 2,5 mg/L para *Enterococcus* spp em caldo BHI, posteriormente semeadas em ágar cromogênico com disco de ertapenem 10 µg e em ágar bileesculina com disco de vancomicina 5µg. Identificados por diferentes testes conforme características macroscópicas (fermentador de glicose e não fermentador de glicose), os que não foi possível identificar e os *Enterococcus* spp. foram identificados pelo Vitek-2. Assim, realizados testes para identificação de perfis de resistência. Com base nos dados coletado, identificou-se o acesso a área externa como uma possível condição que favoreça a colonização por bactérias resistentes aos antimicrobianos nos animais avaliados. Já a alimentação e o uso de antimicrobianos nos últimos 6 meses foi descartada visto o histórico dos animais coletados e alguns estudos já publicados.

Palavras-chave: resistência antimicrobiana; cães; betalactâmicos; bacilos gram-negativos; *Enterococcus* spp; vancomicina

ABSTRACT

Antimicrobial resistance (AMR) poses an increasing global threat; however, the role of domestic animals in this issue has only recently become a topic of discussion. Within this context, this study aimed to primarily investigate the intestinal colonization by multidrug-resistant gram-negative bacilli and vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. from rectal swabs of sheltered dogs in the municipality of Florianópolis-SC. Additionally, the study aimed to identify risk factors and develop measures to prevent colonization by these bacteria. A total of 148 samples were collected, resulting in the isolation of 2 ESBL-producing *Escherichia coli*, one *Enterococcus faecalis*, and one *Enterococcus casseliflavus* resistant to vancomycin, along with 2 *Pseudomonas aeruginosa* and one *Pseudomonas putida*, the latter being resistant to both meropenem and imipenem, although no carbapenemase was detected. Isolation was performed initially using a pressure of 2 mg/L ceftriaxone for gram-negatives and 2.5 mg/L vancomycin for *Enterococcus* spp. in BHI broth, followed by seeding on chromogenic agar with 10 µg ertapenem disk and bile esculin agar with 5µg vancomycin disk. Identification was carried out using various tests based on macroscopic characteristics (glucose fermenter and non-fermenter), with those unidentified and *Enterococcus* spp. being identified via Vitek-2. Subsequently, tests were conducted to determine resistance profiles. Based on the collected data, access to outdoor areas was identified as a possible condition favoring colonization by antimicrobial-resistant bacteria in the evaluated animals. Conversely, feeding habits and antimicrobial use within the last 6 months were ruled out based on the history of the collected animals and some previously published studies.

Keywords: antimicrobial resistance; dogs; beta-lactams; gram-negative bacilli; *Enterococcus* spp; vancomycin

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Anel betalactâmico.....	14
Figura 2 – Estrutura básica das penicilinas.....	15
Figura 3 - Estrutura básica das cefalosporinas.....	16
Figura 4 - Estrutura básica dos carbapenêmicos.....	16
Figura 5 - Estrutura básica dos monobactâmicos.....	17
Figura 6 - Estrutura da vancomicina.....	18
Figura 7 - Disposição dos discos de antimicrobianos para teste por disco combinado	32
Figura 8 - Disposição dos discos do TSA de Vigilância.....	33

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Relação cães, patologias e medicamentos em uso	36
Quadro 2 - Relação cães, uso de antimicrobianos e internações	36
Quadro 3 - Antimicrobianos usados nos últimos 6 meses.....	37
Quadro 4 - Cães acesso à área externa por passeio guiado	37
Quadro 5 – Caracterização dos animais em que foram encontradas bactérias resistentes	37
Quadro 6 - Verificação de sensibilidade a cefalosporinas, carbapenêmicos e polimixina	39
Quadro 7 - Resultados dos testes fenotípicos.....	39
Quadro 8 – Resumo das resistências dos BGNs encontrados.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização da população avaliada.....	35
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 ANTIMICROBIANOS.....	17
1.1.1 Inibidores de síntese de parede celular	17
Betalactâmicos	17
1.1.1.1 <i>Penicilinas</i>	14
1.1.1.2 <i>Cefalosporinas</i>	15
1.1.1.3 <i>Carbapenêmicos</i>	16
1.1.1.4 <i>Monobactâmicos</i>	17
1.1.2 Glicopeptídeos	17
1.1.2.1 <i>Vancomicina</i>	18
1.2 RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS	18
1.2.1 Betalactamases	21
1.2.2 Resistência a Vancomicina	22
1.3 O Papel dos Animais de Estimação na Resistência Antimicrobiana ..	23
1.4 Bactérias Multirresistentes em Animais de Estimação	25
2 JUSTIFICATIVA	26
3 OBJETIVOS	27
3.1 OBJETIVO GERAL.....	27
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICO.....	27
4 METODOLOGIA	28
4.1 SELEÇÃO DE POPULAÇÃO E AMOSTRA	28
4.2 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO	28
4.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	29
4.3.1 Cultivo	29
4.3.2 Isolamento	29
4.3.2.1 <i>Gram-negativas</i>	29

4.3.2.2	<i>Enterococcus spp.</i>	30
4.3.3	Identificação bacteriana	30
4.3.3.1	<i>Gram-negativas</i>	30
4.3.3.2	<i>Enterococcus spp.</i>	30
4.3.4	Testes fenotípicos de resistência.....	31
4.3.4.1	<i>Teste de detecção de betalactamases de espectro expandido (ESBL) por disco combinado</i>	<i>31</i>
4.3.4.2	<i>Teste de detecção rápida de carbapenemases – Blue-carba</i>	<i>32</i>
4.3.5	Outros testes para resistência.....	32
4.3.5.1	<i>Teste para verificar outro possível perfil de resistência.....</i>	<i>32</i>
4.3.5.2	<i>Verificação de sensibilidade a cefalosporinas, carbapenêmicos e polimixina.....</i>	<i>32</i>
4.3.6	Aspectos éticos.....	33
4.3.7	Análise estatística	34
5	RESULTADOS.....	34
	Pesquisa de Bacilos Gram-negativos produtores de betalactamases ..	38
	Pesquisa de <i>Enterococcus spp.</i>.....	40
6	DISCUSSÃO	41
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
	REFERÊNCIAS.....	50
	ANEXO 1	63
	ANEXO 2.....	64

1 INTRODUÇÃO

A descoberta dos antimicrobianos se deu logo no início do século XX, em 1904, tendo a arsfenamina como um primeiro representante, para o tratamento da sífilis. Já em 1935, foi descoberta a ação antimicrobiana da sulfa, contudo, o seu uso abusivo acarretou nas primeiras resistências aos antimicrobianos conhecidas (AMINOV, 2010). A penicilina foi, de fato, o que mudou o rumo da medicina, visto que a partir dela, pesquisadores como Howard Florey e Ernst Boris se interessaram na sua ação antimicrobiana e desenvolveram uma forma de produção em larga escala, podendo fornecer um tratamento pleno aos pacientes. Além disso, a descoberta da estrutura básica (anel betalactâmico) por Dorothy Hodgkin permitiu que, posteriormente, novas classes de fármacos pudessem ser criadas, para driblar os mecanismos de resistência das bactérias ou melhorar a forma de ação conforme melhor entendimento da estrutura bacteriana (KYLE; STEENSMA; SHAMPO, 2015; HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019).

Contudo, a exposição do microrganismo ao fármaco exerce uma pressão seletiva sobre as bactérias, acarretando na disseminação da resistência entre os microrganismos. O processo ocorre pela presença de um antimicrobiano que inibe a atividade de cepas sensíveis e mantém as cepas resistentes, por consequência, a reprodução das mesmas. Além disto, ocorre a transmissão de genes de resistência entre as outras bactérias que colonizam o sítio, levando a uma geração de bactérias resistentes sem passar pela exposição direta aos fármacos (ANTUNES, 2022; MCEWEN; COLLIGNON, 2018; PARELHO; RODRIGUES; GARCIA, 2018).

A resistência antimicrobiana (RAM) é conceituada pela capacidade de um microrganismo, seja bactéria, fungo, vírus ou parasita, de sobreviver à exposição à antimicrobianos, ou seja, sofrem alterações de modo a sobreviver a exposição ao mesmo (WHO, 2020).

Os impulsionadores da resistência antimicrobiana incluem o uso e abuso de antimicrobianos em setores humanos, animais e ambientais e a disseminação de bactérias resistentes e determinantes de resistência dentro e entre esses setores. O uso de antimicrobianos na terapêutica e na agricultura aumenta a seleção de resistência antimicrobiana e o risco de colonização intestinal por bactérias resistentes

aos antimicrobianos em humanos e animais (BELAS *et al.*, 2020). Nesse contexto, a resistência antimicrobiana torna-se um problema ecológico caracterizado por interações complexas envolvendo diversas populações microbianas que afetam a saúde de humanos, animais e o meio ambiente exigindo uma abordagem no conceito de Saúde Única (MCEWEN; COLLIGNON, 2018).

Infecções causadas por organismos resistentes a fármacos estão associadas a maior índice de mortalidade, maior tempo de internação e de tratamento. Segundo a OMS (2021), o aumento da resistência a fármacos antimicrobianos em patógenos que acometem humanos e animais está entre as dez principais ameaças que comprometem a saúde global (HAGEL *et al.*, 2013; MURRAY *et al.*, 2022; OMS, 2021).

Já em 2016 O'Neill anunciava que a RAM seria devastadora nos anos de 2050 caso não se encontre uma solução adequada. Além disso, estimou as mortes anuais por patógenos resistentes aos antimicrobianos, que na época eram de cerca de 700 mil, em 2019 passaram para 1,27 milhões, se tornem 10 milhões em 2050 (Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022; O'NEILL, 2016). Esses índices, além de impactarem nas relações humanas, afetarão a situação socioeconômica global contribuindo para redução em 2,0% a 3,5% do Produto Interno Bruto mundial, resultando no aumento do número de pessoas em condição de extrema pobreza (MCLEOD *et al.*, 2019; PACIOS *et al.*, 2020; World Bank, 2017).

Em 2017, a OMS apresentou uma lista de bactérias, que apresentam resistência à diversos antimicrobianos, além da capacidade de transmissão de seus materiais genéticos, possibilitando o desenvolvimento de resistência em outras espécies bacterianas. Estão destacadas *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes a carbapenêmicos e a família *Enterobacterales*, representados pela *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia* e *Proteus*, resistentes a carbapenêmicos e produtoras de ESBL, além de *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina (OPAS, 2017).

A relação entre o uso de medicamentos em animais e os efeitos na promoção de RAM tem sido objeto de embates na esfera política, sendo o controle do uso desses medicamentos em animais uma das propostas para o enfrentamento do problema.

Em animais de produção, como aves, gado e porcos, a administração de antimicrobianos em baixas doses costuma ser realizada em massa, na própria alimentação, agindo como promotores de crescimento, ou seja, um uso preventivo ao desenvolvimento de doenças e “garantia” do desenvolvimento do animal. Esta forma de administração, segundo YOU e SILBERGELD (2014), gera um ambiente propício para propagação de bactérias resistentes entre esses animais e, conseqüentemente para humanos. Além disso, notou-se que tal prática levou ao desenvolvimento de cepas de *E. coli* resistentes (VAN BOECKEL *et al.*, 2015; SILBERGELD, 2014; XIONG; SUN; ZENG, 2018; YOU, 2014).

Até recentemente, o papel dos animais de companhia nesta problemática foi negligenciado, com as investigações centradas essencialmente nas populações humanas e nos animais de produção, destacando as zoonoses transmitidas pela cadeia alimentar. O recente enfoque dos animais de estimação deve-se ao número crescente de notificações de animais infectados ou colonizados com microrganismos resistentes a múltiplos fármacos, clínica e epidemiologicamente importantes para a medicina humana, considerando que a maioria das classes de antimicrobianos usados para tratar infecções bacterianas em humanos também são usadas em animais (MCEWEN; COLLIGNON, 2018).

Avaliando alguns comportamentos, comuns em animais dentro e fora de casa, como higiene perigenital e da pele por lambedura, hábito de rolar sobre as fezes e coprofagia, espera-se que pelos, pele e boca desses animais fiquem colonizados por bactérias intestinais e da superfície corporal. A subsequente contaminação de coabitantes pode ocorrer diretamente por contato pele a pele, contato com saliva ou fezes, ou indiretamente através do ambiente doméstico (DA COSTA; LOUREIRO; MATOS, 2013).

A convivência próxima do homem com animais de companhia, principalmente cães e gatos, cria oportunidades de transmissão de bactérias resistentes interespecies, aliado ao fato destes animais também poderem funcionar como reservatório de genes de resistência (BELAS *et al.*, 2020). Portanto, dimensionar a magnitude do problema em nosso meio é essencial para implementação de procedimentos de manejo seguro de animais de estimação e uso prudente de antimicrobianos na medicina veterinária

1.1 ANTIMICROBIANOS

Os antimicrobianos são substâncias obtidas a partir de metabólitos microbianos ou de estruturas análogas a essas (MITSCHER; LEMKE; GENTRY, 2008). Estes podem apresentar efeito microbicida, quando promovem a inativação do microrganismo, ou microbiostático quando inibem o crescimento bacteriano (MADIGAN *et al.*, 2014; MACHADO *et al.*, 2019; DALMOLIN *et al.* 2022). Os antimicrobianos podem exercer sua ação sobre o microrganismo de várias formas, interferindo na síntese da parede celular, alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática, promovendo alterações na síntese proteica, inibindo a síntese de ácidos nucleicos e interferindo na replicação do cromossomo (MACHADO *et al.*, 2019; DALMOLIN *et al.* 2022).

Dentre as diversas classes de antimicrobianos, os inibidores da síntese de parede celular, principalmente os betalactâmicos, estão entre os mais utilizados na prática clínica por serem considerados seguros e apresentarem baixo custo (TEIXEIRA; FIGUEIREDO; FRANÇA, 2019).

1.1.1 Inibidores de síntese de parede celular

Betalactâmicos

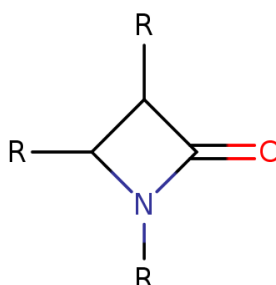
Os antimicrobianos são classificados com base em sua estrutura química, sítio de ação e mecanismo de ação (CALDERÓN; SABUNDAYO, 2006). Os betalactâmicos abrangem diversas categorias, como penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos, compartilhando características estruturais similares devido à presença de um anel betalactâmico, formando uma amida cíclica, ou seja, três carbonos em ligação simples, sendo um deles com uma dupla ligação com oxigênio e o nitrogênio ligado ao carbono (figura 3) (BALSALOBRE; BLANCO; ALARCÓN, 2019).

Esses fármacos atuam inibindo transpeptidase, enzimas essenciais para a síntese da parede celular bacteriana, e, ao interferir nesse processo, esses antimicrobianos comprometem a integridade estrutural da parede celular, levando à

lise celular pela pressão osmótica e aumento permeabilidade e, por conseguinte, à morte bacteriana bacterianas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Assim, as diferentes famílias de betalactâmicos possuem mecanismos de ação semelhantes ao interagirem com as proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs), resultando na desestabilização da parede celular bacteriana (YIP; GERRIETS, 2022).

Figura 1 - Anel betalactâmico



Fonte: Chemical Entities of Biological Interest (ChEBI)

1.1.1.1 Penicilinas

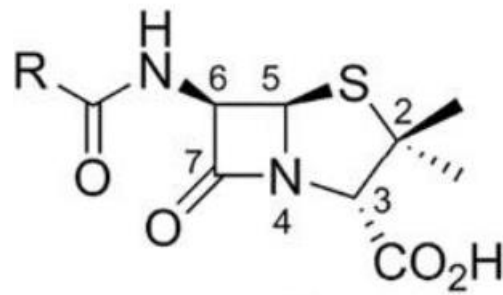
A penicilina foi a primeira família de antimicrobianos identificada, com sua estrutura composta de um anel betalactâmico ligado ao anel heterocíclico tiazolidina ((CH₂)₃(NH)S), que altera a estrutura de modo que inibe a ressonância entre o nitrogênio e carbono da carbonila, e abrange diferentes categorias, cada uma com um espectro de ação específico, sendo que cada um desses se difere pela cadeia lateral (figura 3) (MITSCHER; LEMKE; GENTRY, 2008).

São divididas em classes de acordo com as suas estruturas e espectro de ação. As penicilinas naturais, como penicilina G e penicilina V, são predominantemente efetivas contra bactérias gram-positivas, sendo usadas em infecções por *Streptococcus* spp. e microrganismos sensíveis. As penicilinas antiestafilocócicas, como oxacilina e meticilina, foram desenvolvidas para resistir à

degradação por enzimas betalactamases produzidas por *Staphylococcus* spp., sendo úteis contra infecções estafilocócicas (MILLER, 2002).

Já, as aminopenicilinas, exemplificadas por ampicilina e amoxicilina, são de amplo espectro, atuando contra uma variedade de bactérias gram-positivas e gram-negativas, e aplicadas em infecções do trato respiratório e urinário. Além disso, as penicilinas de espectro estendido, como as ureidopenicilinas exemplificadas por piperacilina, possuem amplo espectro de ação, incluindo atividade contra algumas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, sendo empregadas em infecções hospitalares (MILLER, 2002).

Figura 2 – Estrutura básica das penicilinas



Fonte: Adaptado de TOOKE *et al*, 2019.

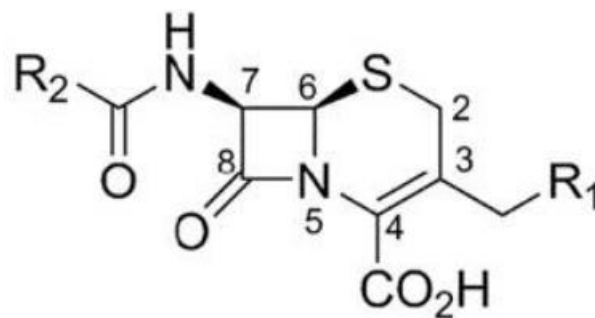
1.1.1.2 Cefalosporinas

A família das cefalosporinas, por sua vez, tem um anel di-hidrotiazínico dihidrotiazina (anel de seis membros) ligada ao anel betalactâmico (figura 3). Essas, apresentam 4 gerações que se diferenciam pela ordem de desenvolvimento e espectro de ação, que varia conforme a sua cadeia lateral ligada à estrutura básica PUTAROV; GALEND, 2011).

As de primeira geração tem ação principalmente sobre gram-positivos e alguns gram-negativos como *E. coli*, *Proteus spp* e *Klebsiela pneumoniae*, sendo representada por cefalexina e cefazolina, por exemplo. Já as de segunda geração possuem espectro direcionados às bactérias gram-negativas devido à resistência à hidrólise enzimática pelas cefalosporinases produzidas por estas, sendo essa representada por cefuroxima. A terceira geração, por sua vez, tem ação sobre gram-

negativos que podem apresentar resistência a cefalosporinas de primeira e segunda geração, além de uma de suas representantes, ceftazidima, apresentar ação contra *Pseudomonas aeruginosa*. Por último, a quarta geração, apresenta maior espectro dentre as cefalosporinas, com ação sobre gram-negativos, incluindo *Pseudomonas* e cocos gram-positivos.

Figura 3 - Estrutura básica das cefalosporinas

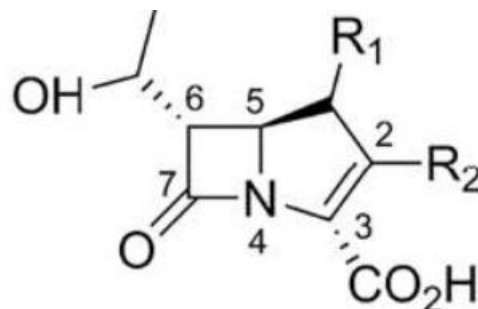


Fonte: Adaptado de TOOKE *et al*, 2019.

1.1.1.3 Carbapenênicos

Por fim, os carbapenênicos apresentam uma pirrolina de 5 membros, sendo essa uma cadeia insaturada ligada a um átomo de carbono do anel betalactâmico, além da presença de uma cadeia hidroxietila (figura 4). Representada pelo ertapenem, imipenem e meropenem, tem ação sobre cocos gram-positivos, bacilos gram-negativos fermentadores e não-fermentadores, anaeróbios gram-positivos e gram-negativos.

Figura 4 - Estrutura básica dos carbapenênicos



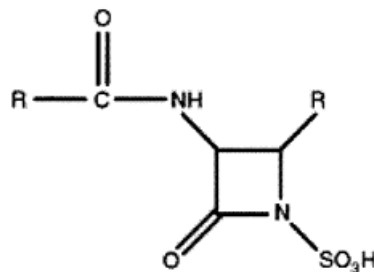
Fonte: Adaptado de TOOKE *et al*, 2019.

1.1.1.4 Monobactâmicos

Diferentemente das outras famílias de betalactâmicos, esses são compostos de um único anel betalactâmico, sem anéis adicionais, conferindo propriedades antibacterianas mais simples e específicas. Em contrapartida, por tamanha simplicidade, o espectro de ação se mostra mais restrito, empregado contra bactérias gram-negativas. Esta abordagem específica torna os monobactâmicos uma opção valiosa no tratamento de infecções, especialmente em casos de resistência a outras classes de antibióticos (CONSTANT, 5ª edição).

O representante da família mais amplamente conhecido e utilizado é o Aztreonam, usado em casos de infecções de *P. aeruginosa* e *E. coli*.

Figura 5 - Estrutura básica dos monobactâmicos



Fonte: adaptado de WILLIAMS, 1999.

1.1.2 Glicopeptídeos

Os glicopeptídeos são uma classe de antimicrobianos com ação bactericida sobre a parede celular de bactérias gram-positivas (JOHNSON; UTTLEY; GEORGE, 1990), desempenhando seu papel inibindo os estágios finais da síntese dessa parede. Eles agem diretamente no peptídeo terminal D-alanil-D-alanina, obstruindo a atividade das PBPs (proteínas ligadoras de penicilina), o que resulta no comprometimento da

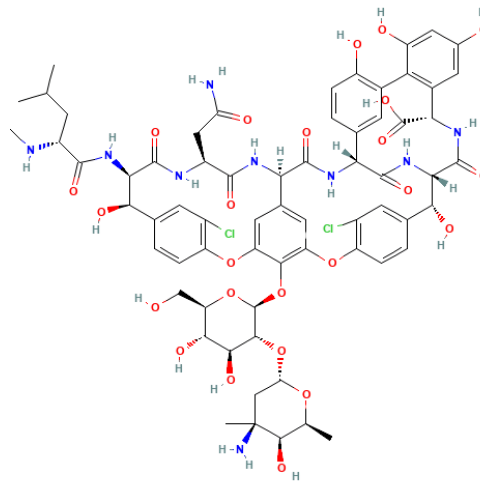
integridade do envelope celular. Este processo culmina em estresse osmótico e, eventualmente, no rompimento da célula bacteriana (MADIGAN *et al.*, 2004; RANG & DALE, unknown edition; SALYERS, 1994; STOGIOS; SAVCHENKO, 2020).

Os exemplos mais comum são a vancomicina e a teicoplanina, que atuam de maneira semelhante na inibição dos estágios finais da síntese da parede celular. Ambos os medicamentos são frequentemente utilizados no tratamento de infecções causadas por organismos gram-positivos invasivos resistentes à betalactâmicos (SVETITSKY; LEIBOVICI; PAUL, 2009).

1.1.2.1 Vancomicina

Um glicopeptídeo muito comum é a vancomicina. O antimicrobiano é composto por uma cadeia peptídica de 7 membros, formando um anel tricíclico vancosamina com glicose ligada (figura 7) (BIONDI, Stefano; CHUNGUNOVA, Elena; PANUNZIO, Mauro, 2016).

Figura 6 - Estrutura da vancomicina



Fonte: PubChem.

1.2 RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

As bactérias podem apresentar resistência intrínseca aos antimicrobianos, que se dá pela ocorrência natural de mecanismos estruturais e/ou funcionais, (BARAN; KWIATKOWSKA; POTOCK, 2023), ou seja, é uma forma de resistência inata transmitida verticalmente e exibida pelos organismos da mesma espécie. Um exemplo deste tipo de resistência é o das bactérias gram-negativas que são intrinsecamente resistentes aos glicopeptídeos (MADIGAN *et al.*, 2012).

Em contrapartida, há também a resistência adquirida, mais importante no que se refere à problemática das resistências antimicrobianas, tanto em medicina humana como veterinária. Esta resistência pode resultar da mutação de genes reguladores ou estruturais, da aquisição de genes veiculados por elementos genéticos móveis ou pela combinação destes dois mecanismos. A aquisição de genes de resistência ocorre frequentemente por meio de elementos móveis, como plasmídeos, transposons ou integrons, por processos de conjugação, transdução e transformação. Na conjugação, a transferência de material genético ocorre por contato direto entre duas células bacterianas, envolvendo plasmídeos ou transposons. Na transdução, a transferência é mediada por bacteriófagos que agem como vetores na ausência de contato direto entre as células. Na transformação, a bactéria capta e incorpora no seu genoma ou plasmídeo os fragmentos livres de DNA provenientes da lise de outra célula (ANDERSSON; HUGHES, 2017; LERMINIAUX; CAMERON, 2019).

A RAM em uma ampla gama de agentes infecciosos representa uma séria ameaça a saúde humana, animal e ambiental (WHO, 2022). A mesma pode ocorrer por exposição do microrganismo aos antimicrobianos, ainda que em concentrações maiores que a indicada para uso terapêutico, porém seguem capazes de se multiplicar na presença dos mesmos, pelo desenvolvimento de mecanismos para esquivar da ação de tais fármacos (DA COSTA; SILVA JUNIOR, 2017; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2020). Essa, expressa os genes *mexR*, *nalB*, *nalC* ou *nalD*, que são responsáveis pelo aumento da expressão das bombas de efluxo, um dos 3 mecanismos de resistência expressos por esta bactéria (PANG *et al.*, 2019).

Como a RAM está se tornando cada vez mais frequente e compromete o tratamento convencional, acaba por enfraquecer a medicina moderna colocando em risco milhões de vidas, uma vez que as opções terapêuticas para essas infecções se tornam cada vez mais limitadas ou inadequadas (LEPAPE *et al.*, 2020). Países de

baixa e média renda, com baixa vigilância, mostraram-se mais propensos a apresentar elevadas taxas de RAM quando comparados a países com alta cobertura de testes de resistência. Segundo dados da OMS, a resistência mediana de *E.coli* à cefalosporinas de terceira geração foi de 42% e 35% de MRSA em países de baixa e média renda. Em contrapartida, os níveis observados em países com alta cobertura de testes de resistência, foram significativamente mais baixos, 11% e 6,8%, respectivamente (GLASS, 2022).

A resistência bacteriana se manifesta por quatro mecanismos principais: ativação de mecanismos de efluxo (bombas de efluxo), redução da permeabilidade da membrana externa (pela perda de porinas), modificação no alvo de ação do fármaco ou a inativação do mesmo pela produção de enzimas (PULINGAN *et al.*, 2022).

As bombas de efluxo são transportadores de membrana encontrados em todas as bactérias desempenhando funções como manutenção das concentrações de soluto intracelular, eliminação de subprodutos tóxicos do metabolismo ou transporte de aminoácidos e nucleotídeos, além da resistência. Algumas bombas de efluxo são específicas, porém outras são capazes de eliminar vários compostos, incluindo detergentes e antimicrobianos de diversas classes (SHARMA; GUPTA; PATHANIA, 2019).

Quando se fala da redução da permeabilidade de bactérias, essa está relacionada às porinas, que são canais não específicos na membrana externa bacteriana que permitem a entrada de substâncias hidrofílicas (incluindo moléculas de antimicrobianos). Quando esses canais perdem suas funções ou ocorre repressão genética que resulta em sua perda, ocorre uma diminuição na permeabilidade da membrana, resultando em resistência, sendo que essa pode ser conferida a uma variedade de agentes antimicrobianos (NIKAIDO; PAGÈS, 2012).

A modificação do alvo de ação de antimicrobianos refere-se à aquisição de genes que codificam novos produtos ou alvos que conferem resistência aos antimicrobianos. A bactéria que se torna resistente ao antimicrobianos, acarretando na substituição do alvo (MUNITA; ARIAS, 2016.). Como exemplo pode-se citar a produção de enzima ligadora de penicilina com baixa afinidade, por espécies de *Staphylococcus*. (UDDIN *et al.*, 2021).

A produção de enzimas que modificam ou degradam as estruturas químicas dos antimicrobianos é o mecanismo de resistência mais frequente e importante. Em bactérias gram-negativas, diferentes tipos de betalactamases têm sido identificadas como o principal problema no surgimento de resistência, podendo conferir resistência às penicilinas, cefalosporinas, cefens, monobactâmicos e carbapenêmicos, considerados os principais antimicrobianos no tratamento de infecções por bactérias gram-negativas (BRASIL. ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2021).

1.2.1 Betalactamases

Um dos principais mecanismos de resistência aos betalactâmicos é a produção de enzimas betalactamases, que, de um modo geral, agem hidrolisando a ligação amida do anel betalactâmico, sendo esse um mecanismo primário de resistência, disseminado em elementos móveis (TOOKE *et al.*, 2019).

Essas enzimas são divididas em 4 classes, conforme a classificação de Ambler. Na classe A, encontram-se as betalactamases de espectro estreito, betalactamases de espectro estendido (ESBLs) e um grupo de carbapenemases. Esta classe é denominada de serina-betalactamase, ou seja, formam um intermediário enzima-antibiótico transitório que hidrolisam a serina presente na cadeia anel, porém acabam inibidas pelos inibidores.

As ESBLs são diferenciadas geneticamente em *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, e *bla*_{SHV}, que apresentam diferentes afinidades à ceftazidima e cefotaxima. Podem ser encontradas principalmente em *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (FERNANDES; AMADOR; PRUDÊNCIO, 2013).

As carbapenemases de classe A, identificadas como KPC (*Klebsiella pneumoniae Carbapenemase*), apresentando resistência a todos os betalactâmicos (penicilinas, cefalosporinas de 1^a a 4^a geração, carbapenêmicos e monobactâmicos).

Ainda, em se tratando de carbapenemases, existem as conhecidas como metalo-betalactamases (MBLs), carbapenemases de classe B, que tem zinco no seu sítio ativo. Estas enzimas apresentam resistência as penicilinas, cefalosporinas e

carbapenêmicos, sendo sensível aos monobactâmicos e inibidores de betalactamases.

As betalactamases da classe C, por sua vez, são codificadas por genes presentes, normalmente, no cromossomo bacteriano que podem permanecer silenciosos, sendo expressos somente na presença de um indutor. A principal delas é a cefalosporinase AmpC, que hidrolisa as penicilinas, incluindo os inibidores de betalactamase tradicionais (clavulanato, sulbactam e tazobactam), e as cefalosporinas até a terceira geração (TAMMA *et al.*, 2019).

Por fim, a classe D é representada pelas oxacilinases, que apresenta grande relevância à *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes, com a capacidade de hidrolisar eficientemente os β -lactâmicos do tipo isoxazolil, como a oxacilina. (JUNE *et al.*, 2014). Essa classificação se aplica a uma extensa família de enzimas com espectro de inibição extremamente variável que, além de conferirem resistência aos betalactâmicos como a oxacilina até cefalosporinas de 4ª geração, ou carbapenêmicos, conferem resistência também aos inibidores tradicionais. Deste modo, existem as chamadas ESBL tipo OXA e as Carbapenemases tipo OXA.

1.2.2 Resistencia a Vancomicina

A resistência à vancomicina apresentada pelos *Enterococcus* spp. está relacionada à 5 principais genes que caracterizam o fenótipo de resistência, sendo eles: *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD* e *vanE* (DOS SANTOS; DE PAIVA; ANDRADE, 2022).

O gene *vanA* leva a codificação do peptídeo final D-Alanil-D-lactato, ou seja, modifica o alvo de ligação do antimicrobiano que é peptídeo D-alanil-D-alanina. Este mecanismo também se aplica aos genes *vanB* e *vanD*, diferenciando-se pela sensibilidade à teicoplanina e o microrganismo em que são mais prevalentemente expressos. O gene *vanA* é mais frequente em *E. faecium*, sendo esse responsável pela resistência à vancomicina e teicoplanina. Já *vanB* apresenta uma similaridade genética de 67% com o gene *vanA*, porém, diferentemente desse, mostra-se sensível à teicoplanina, estando mais presente em *E. faecalis* (MIRZAI *et al.*, 2022; PHUKAN *et al.*, 2016; SELIM, 2022).

O gene *vanC*, por sua vez, apresenta 3 principais subtipos: *vanC1*, *vanC2* e *vanC3*, intrínsecos nas espécies *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* e *E. flavescens*, respectivamente, contudo é um perfil menos frequentemente encontrado em infecções humanas. A resistência expressa está relacionada à produção de precursores com terminal d-Ser no local do d-Ala de peptídeoglicano com menor afinidade às moléculas de glicopeptídeo, sendo resistente à vancomicina, porém sensível a teicoplanina (CETINKAYA; FALK; MAYHALL, 2000; NAVARRO; COURVALIN, 1994).

Já, *vanE* expressa resistência leve a moderada à vancomicina e sensibilidade a teicoplanina. O mecanismo está relacionado à formação de proteína codificada pelo gene, alterando o aminoácido final do peptídeoglicano para D-Alanil-D-Serina, dificultando a ligação da molécula do antimicrobiano ao seu alvo (AHMED, BAPTISTE, 2018; SELIM, 2022).

1.3 O PAPEL DOS ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO NA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA

Os animais de estimação, principalmente cães e gatos, são considerados no mundo ocidental como parte integrante das famílias e partilham, muitas vezes, o mesmo espaço (OVERGAAUW et al., 2020; TAKASHIMA; DAY, 2014). Segundo dados do Instituto Pet Brasil, em 2021 foram contabilizados 149,6 milhões de animais de estimação em nosso país (INSTITUTO PET BRASIL, 2022). Além de proporcionarem benefícios relevantes para saúde física, mental e social dos tutores, os animais de estimação desempenham ainda outras funções relevantes. Podem ser animais de terapia, onde são utilizados como coterapeutas em diversos tipos de tratamentos, ou ainda animais de serviço, treinados para auxiliar as pessoas com diferentes tipos de incapacidades, auxiliar em investigações, operações de salvamento e como ferramentas diagnósticas em doenças humanas, principalmente oncológicas e endócrinas (OVERGAAUW et al., 2020; TAKASHIMA; DAY, 2014).

O desenvolvimento de políticas relacionadas à saúde e o bem-estar animal e os recentes progressos na medicina veterinária permitiram melhorar muito a qualidade de vida dos animais de estimação. Porém, o abuso na utilização de fármacos, incluindo os antimicrobianos, quer com fins profiláticos ou terapêuticos, pode contribuir

substancialmente para elevação nas taxas de resistência antimicrobiana (MARCHETTI *et al.*, 2021; MEDINA; PIEPER, 2016; WEESE *et al.*, 2015).

Considerando o fato de que o médico veterinário tem acesso a uma grande variedade de antimicrobianos, inclusive aqueles que constituem a “última linha” de tratamento de infecções potencialmente fatais em humanos (POMBA *et al.*, 2017; WEESE *et al.*, 2015). Os carbapenêmicos, linezolida e vancomicina são exemplos de antimicrobianos cuja administração nos animais deve ser expressamente restrita, de forma a preservar a sua eficácia contra infecções graves por microrganismos multirresistentes (BRASIL. MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E

ABASTECIMENTO 2022). Na prática clínica, nem sempre se recorre à realização de culturas bacterianas e antibiograma para fundamentar a escolha dos fármacos, prevalecendo a terapia empírica.

Apesar de os médicos veterinários estarem cada vez mais conscientes da importância da realização de análises bacteriológicas na prevenção da resistência antimicrobiana, são confrontados regularmente com diversos impedimentos à sua execução, sendo um dos principais motivos, a contenção monetária (NORRIS *et al.*, 2019; WEESE *et al.*, 2015). A decisão de prescrever ou de administrar antimicrobianos para satisfazer as expectativas dos clientes é apontada como uma das principais razões para o uso excessivo de antimicrobianos (NORRIS *et al.*, 2019). É preciso enfatizar que a prescrição desses fármacos não pode ser banalizada e só deve ser empregada quando estritamente necessária, uma vez que, promove a seleção de cepas resistentes nos animais tratados e estas podem ser disseminadas para outros animais, humanos e ambiente (BRASIL. MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO 2022).

Outro ponto importante para minimizar a resistência antimicrobiana é a sensibilização dos tutores quanto à importância de cumprir as indicações relativas à administração da medicação e aos cuidados de higiene na manipulação do animal. A prevenção de doenças através da implementação de planos de vacinação eficazes, *check-up* regulares e acompanhamento nutricional, são fatores importantes na redução da RAM, na medida em que diminuem a necessidade do uso de antimicrobianos (DAMBORG *et al.*, 2016; WEESE *et al.*, 2015). A colonização dos

animais de estimação por bactérias resistentes aos antimicrobianos é motivo de preocupação, visto que esses animais podem desenvolver infecções graves por esses microrganismos ou atuar como reservatórios de bactérias que portam genes de resistência (HAAG; ROSS FITZGERALD; PENADÉS, 2019; MARCHETTI *et al*, 2021; PENNA *et al*, 2021; WEESE *et al*, 2010).

Além dos já citados, a possibilidade de troca de elementos genéticos móveis entre diferentes microrganismos que colonizam o hospedeiro também é motivo de preocupação, visto que, essa permite a disseminação de mecanismos de resistência à outras espécies bacterianas (HAAG; ROSS FITZGERALD; PENADÉS, 2019; MARCHETTI *et al.*, 2021).

1.4 BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES EM ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO

Considerando que a composição da microbiota normal de humanos e animais é influenciada por diversos fatores como a genética, idade, dieta entre outros. Muitos animais de estimação, saudáveis ou doentes, podem estar colonizados por microrganismos que apresentam resistência aos antimicrobianos. Uma grande preocupação em relação a essa situação é a possibilidade de transferência de microrganismos multirresistentes para outros animais, para seus tutores e/ou para o ambiente (DOS SANTOS *et al.*, 2022).

Alguns autores, como Ana Patrícia Brás Pinhão (2021), investigaram a presença bactérias resistentes em animais domésticos, tendo relatado a presença de enterobactérias produtoras de ESBL em amostras de pele de cães e gatos internados (PINHÃO, 2021). Já Schmiedel (2014) trabalhou com banco de bactérias da ordem *Enterobacterales resistentes a cefalosporinas de 3ª geração*, isoladas de infecções em cães, gatos e cavalos, sendo 91,6% dos isolados de animais confirmados como produtores de ESBL, além da detecção de resistência a ertapenem, com presença de OXA-48 (SCHMIEDEL *et al.*, 2014).

Em outra pesquisa realizada a partir de *swab* retal de cães e gatos, os autores relataram isolados produtores de ESBL, com maior porcentagem de *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, além de isolados resistentes a, pelo menos, três classes

de antimicrobianos, ou seja, consideradas bactérias multirresistentes (SFACIOTTE; PARUSSOLO; MELO *et al.*, 2020).

Relacionado ao *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina, em 2012, um estudo foi realizado a partir de *swab* retal de cães e gatos, neste, notou-se a prevalência de *E. faecalis*, seguida de *E. faecium*. Outras espécies também foram encontradas, porém nenhuma portadora do gene *vanA*, nem *vanB*, contudo, foram encontrados genes *vanC* (1, 2 e 3) em outras espécies (KATAOKA *et al.*, 2012). Já, em uma pesquisa semelhante, houve prevalência de *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* e *E. faecium*, apresentando genes *vanC2*, *vanC1* e *vanA* (BAĀCIGİL *et al.*, 2016). Por fim, uma meta análise realizada por pesquisadores da Malásia constataram uma maior prevalência de *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina (VRE) em cães do que em outras espécies animais (WADA, IREKEOLA, E.A.R., 2021).

2 JUSTIFICATIVA

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é classificada pela OMS como problema de saúde pública global. Entre os diferentes fatores que contribuem para esse cenário está o uso de excessivo de antimicrobianos (MIRANDA *et al.*, 2021). Vários estudos identificaram a emergência de patógenos bacterianos multirresistentes de diferentes origens, incluindo animais de estimação, animais de produção, peixes e produtos derivados de animais (CHAI *et al.*, 2021; ENANY *et al.*, 2018; HAAG; ROSS FITZGERALD; PENADÉS, 2019; MIRANDA *et al.*, 2021).

A magnitude da resistência antimicrobiana em animais ainda não é totalmente conhecida, contudo animais de estimação podem contribuir para a disseminação da resistência antimicrobiana devido ao contato próximo com humanos e seu *status* como membro da família em domicílios urbanos (MARCHETTI *et al.*, 2021; MIRANDA *et al.*, 2021). A disseminação de bactérias patogênicas multirresistentes em humanos e animais geralmente está relacionada a infecções persistentes, maior taxa de incidência de complicações e aumento da morbidade e mortalidade (CHAI *et al.*, 2021).

Outra preocupação, além do maior risco de infecções por bactérias multirresistentes, é a possibilidade dos animais de estimação atuarem como reservatórios desses microrganismos multirresistentes (DOS SANTOS *et al.*, 2022; HAAG; ROSS FITZGERALD; PENADÉS, 2019; MARCHETTI *et al.*, 2021; PENNA *et al.*, 2021). Astrocas de microrganismos entre hospedeiros são eventos frequentes, entretanto, podem ser seguidas por adaptações microbianas que decorrem da troca de elementos genéticos móveis, como fagos, plasmídeos, ilhas de patogenicidade, permitindo que o microrganismo se expanda em novas populações de hospedeiros (HAAG *et al.*, 2019). Esses eventos podem disseminar a resistência antimicrobiana para diferentes populações microbianas em diferentes nichos ecológicos.

Uma das estratégias para contenção da resistência antimicrobiana recomendadas pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), consiste na vigilância das resistências. Nesse contexto, a realização do presente estudo irá contribuir para que possamos dimensionar a amplitude da colonização por bactérias resistentes aos antimicrobianos, de maior relevância clínica em humanos, em cães acolhidos em abrigo no município de Florianópolis-SC.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a colonização intestinal por bacilos gram-negativos multirresistentes e *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em cães acolhidos em abrigo de Florianópolis.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICO

- Investigar a colonização intestinal por bacilos gram-negativos produtores de ESBL e carbapenemases e *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em cães acolhidos no abrigo;

- Identificar possíveis condições que favorecem a colonização por bactérias resistentes aos antimicrobianos nos animais avaliados;
- Sugerir medidas para minimizar o risco de disseminação de microrganismos resistentes.

4 METODOLOGIA

4.1 SELEÇÃO DE POPULAÇÃO E AMOSTRA

A amostragem foi realizada por técnica não probabilística e não aleatória, ou seja, amostragem por conveniência (ETIKAN; ABUBAKAR; ALKASSIM, 2016). Foram adotados como critérios para coleta cachorros considerados dóceis, que permitiram a imobilização de forma cautelosa e sem risco de lesão e que não se mostraram muito incomodados com a presença de pessoas diferentes em seu ambiente.

As amostras utilizadas foram de *swab* retal, numeradas de 1 à 74, tendo um formulário preenchido com informações gerais sobre cada animal (anexo 1) para posterior identificação e análises estatísticas.

4.2 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Os animais foram submetidos à coleta de 2 *swabs* no reto. Segundo, Summers *et al.* (2021), o *swab* retal é uma alternativa prática para coleta de material em cães para estudos da composição da microbiota do trato intestinal (SUMMERS; GALLONI; WEBB, 2021).

Sendo assim, com o animal imobilizado, foi inserindo o *swab* de algodão estéril, previamente umedecido em solução salina também estéril, por cerca de 2 cm no canal anal e girado suavemente, evitando tocar a pele e pelos da região perianal (adaptado de SUMMERS *et al.* 2021).

Após a coleta, um dos *swabs* foi mergulhado em meio caldo BHI (*Brain Heart Infusion*/IONLAB) acrescido de ceftriaxona (TEUTO®) em concentração de 2mg/L e, o outro, em meio caldo BHI acrescido de vancomicina 5µg (2,5 mg/L) (adaptado de ISEPPI *et al.*, 2020) e enviado para o Laboratório de Microbiologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas da UFSC para processamento.

4.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

4.3.1 Cultivo

Após recebidas as amostras no Laboratório, as mesmas foram incubadas em estufa, à 35°C ± 2°C por 24 horas, para proliferação das bactérias.

4.3.2 Isolamento

4.3.2.1 *Enterobacterales* e bacilos gram-negativos não fermentadores de glicose (BGN-NF)

Após 24h de incubação em caldo BHI + ceftriaxona 2mg/L, as amostras foram semeadas em placas contendo meio ágar cromogênico com adição de disco de ertapenem 10 ug. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35±2°C por 24 horas.

Colônias crescidas próximas do disco de ertapenem (halo de 27mm), foram repicadas para outra placa de ágar cromogênico e submetidas a coloração de Gram. Os isolados correspondentes a bacilos Gram-negativos foram identificados, conforme descrito no item 4.3.3, e submetidos ao teste rápido para produção de carbapenemases (*Blue-carba*) e teste fenotípico de resistência com inibidores (EDTA, cloxacilina e ácido fenilborônico). Já as colônias crescidas fora do halo de inibição do ertapenem foram testadas para produção de ESBL.

4.3.2.2 *Enterococcus spp.*

Após 24h de incubação em caldo BHI + vancomicina, as amostras foram semeadas em placas contendo meio ágar bile esculina (BEA) com adição de um disco de vancomicina 5 µg.

Colônias crescidas dentro de um halo de 12 mm e com coloração preta, foram identificadas e testadas para sensibilidade a vancomicina, por disco difusão em meio Mueller-Hinton (MH) com disco de vancomicina 5 µg.

4.3.3 Identificação bacteriana

4.3.3.1 *Bacilos gram-negativos*

Ao avaliar a forma de crescimento das colônias bacterianas, foram direcionadas as provas bioquímicas para identificação. Assim, aquelas que apresentaram odor característico e colônias disformes, assim como pigmento esverdeado quando crescidas em meio MacConkey, foram submetidas à sequência de testes para bacilos gram-negativos não fermentadores (BGN-NF) (oxidase, caldo BHI, cetrimide, OF glicose (com e sem vaselina), OF lactose, OF maltose, OF xilose e SIM).

Já, aquelas com colônias características de *Enterobacterales* de acordo com especificações do fabricante do meio, sugestivas de bacilos gram-negativos fermentadores (BGN-F), foram repicadas para placa contendo meio de ágar MacConkey (HiMEDIA®) e submetidas ao *Enterokit*® (LaborClin®) (triptofano, lactose, H₂S, glicose, gás, lisina, indol, ornitina, motilidade, citrato e ramnose).

4.3.3.2 *Enterococcus spp.*

Bactérias crescidas em placas contendo meio de BEA, dentro de 12 mm, próximas do disco de vancomicina 5 µg, sugestivas de *Enterococcus spp.*, foram inicialmente repicadas para meio cromogênico para isolamento. Colônias sugestivas de *Enterococcus spp.* foram submetidas a coloração de Gram e prova da calase.

Isolados gram-positivos com morfologia cocóide e catalase negativos foram semeados em meio de tolerância ao sal (MTS/KASVI®), para confirmação do gênero. A identificação da espécie foi realizada por meio do equipamento VITEK® (BIOMÉRIEUX®), a partir de bactéria isolada de meio cromogênico (aplicação da técnica foi realizada em parceria com o laboratório de Microbiologia do Hospital Universitário).

4.3.4 Testes fenotípicos de resistência

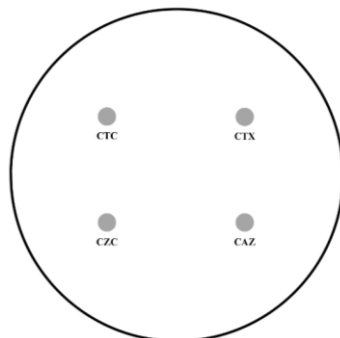
Após a identificação bacteriana, os isolados foram submetidas aos testes fenotípicos de resistência quando indicado, seguindo as recomendações do Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos - BrCAST (BrCAST, 2023).

4.3.4.1 *Teste de detecção de betalactamases de espectro estendido (ESBL) por disco combinado*

O teste de disco combinado foi uma estratégia pensada para otimizar o tempo e gasto da pesquisa, baseado em Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica (OPLUSTIL *et al*, 2020).

- I) Inóculo preparado em escala 0,5 de Mac Farland das bactérias isoladas no meio cromogênico crescidas com uma distância superior a 27mm do disco de ertapenem.
- II) Semeado em placa de ágar MH, com auxílio de *swab*;
- III) Discos dos antimicrobianos ceftazidima (CAZ), ceftazidima + ácido clavulânico (CZC); cefotaxima (CTX), cefotaxima + ácido clavulânico (CTC) foram dispostos na placa com auxílio de pinça;
- IV) Placas incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C ± 2°C, por 18-20 horas; Diferença ≥ 5 mm entre os halos de inibição obtidas com o disco da cefalosporina e o disco combinado com ácido clavulânico é considerada positivas para produção de ESBL.

Figura 7 - Disposição dos discos de antimicrobianos para teste por disco combinado



Fonte: Elaborado pela autora.

4.3.4.2 Teste de detecção rápida de carbapenemases – Blue-carba

BGN resistentes ao ertapenem e BGNNF foram submetidos ao teste baseado na hidrólise do substrato (imipenem) por parte da enzima carbapenemase, com consequente liberação de um ácido que pode ser detectado pelo indicador azul de bromotimol. Se esta estiver presente, o meio irá virar para amarelo. Caso contrário, permanecerá da cor basal, verde esmeralda (KAMEL *et al.*, 2022).

4.3.5 Outros testes para resistência

4.3.5.1 Teste para verificar outras possíveis resistências a betalactâmicos

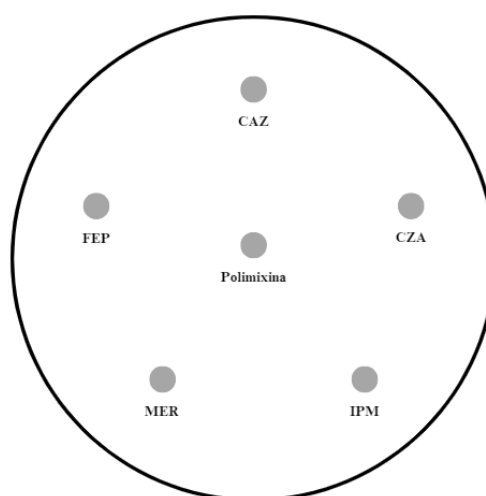
Em bactérias BGN-F negativas para produção de ESBL, foram submetidas a um novo teste, que contou com a aplicação dos discos de CAZ, CTX, ampicilina (AMP), ampicilina com sulbactam (SAM), cefepime (FEP), meropenem (MER), ceftazidima (CFO), ertapenem (ETP) e imipenem (IPM).

4.3.5.2 Verificação de sensibilidade a cefalosporinas, carbapenêmicos e polimixina em BGN-NF

A partir de um inóculo em 0,5 da escala MacFarland, com um *swab* de algodão, foi semeado em três direções em uma placa contendo ágar MH. Em seguida, foram aplicados discos de ceftazidima-avibactam (CZA), CAZ, FEP, IMP, MEM e gota de

polimixina (Drop Test) (figura 10). O drop test consiste em gotejar 10 µl de uma solução de polimixina b na concentração 8 µg/mL , sobre a placa já semeada com a bactéria (PASTERAN *et al.*, 2021) A sensibilidade é verificada pela formação de halo de inibição. A resistência aos demais antimicrobianos foi verificada conforme as tabelas de pontos de corte para interpretação do BrCAST (BrCAST, 2023).

Figura 8 - Disposição dos discos da verificação de sensibilidade a cefalosporinas, carbapenêmicos e polimixina



Fonte: Elaborado pela autora

4.3.6 Aspectos éticos

O projeto foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSC (CEUA-UFSC) com parecer nº 3349240223 (anexo 2). O responsável técnico pela Diretoria de Bem Estar Animal - DIBEA registrou seu aceite no TCLE, concordando com os termos da pesquisa e autorizando a utilização dos dados para fins de publicação, sendo preservados todos os dados de identificação.

4.3.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados por estatística descritiva, mediante o cálculo de frequência e percentual. As análises serão realizadas a partir dos dados obtidos em Excel.

5 RESULTADOS

Ao total, considerando os critérios de inclusão, foram coletadas amostras de 74 cães, totalizando 148 *swabs* (2 por animal), um destinado a investigação de BGN produtores de betalactamases e outro para investigação de VRE. As amostras foram coletadas no período de junho a agosto/23.

Quanto a caracterização da população, os cães tinham entre 2 e 15 anos, estando no local há, em média, 2 anos e meio. As raças variaram, com uma prevalência de 67,6% de cães sem raça definida (SRD), conforme descrito na tabela 1.

No que diz respeito à saúde dos cães, apenas um (67) não apresentou calendário vacinal completo (vacina anti rábica e polivalente). Dentre os 74 cães, 20 deles têm alguma patologia crônica (quadro 1), sendo que 10 desses fazem uso de medicamentos de uso contínuo.

Ainda sobre a saúde dos cães, observou-se que quatro animais (3, 13, 18, 27) foram internados nos últimos 6 meses, sendo que metade deles (3 e 27) fizeram uso de antimicrobianos (quadro 2). Além desses, outros 11 cães também fizeram o uso desse tipo de medicamento nos últimos 6 meses, os quais estão especificados no quadro 3.

Em relação ao estilo de vida, a maioria dos animais reside em canis que proporcionam uma área aberta e espaço adequado para circulação. No entanto, alguns têm a oportunidade de acessar áreas externas por meio de passeios guiados, conforme indicado na quadro 4. Dentre os 74 cães, apenas um se alimentava de ração comercial e comida caseira, os demais apenas ração comercial, sendo o manejo realizado pelas pessoas do abrigo, sem a intervenção de profissionais da saúde.

Tabela 1 - Caracterização da população avaliada

VARIÁVEL	Nº (%)
SEXO	
Macho	55 (74,3)
Fêmea	19 (25,7)
FAIXA ETÁRIA (M_d = 6 anos)	
1 a 4 anos	22 (29,7)
5 a 8 anos	27 (36,5)
9 a 12 anos	20 (27,0)
13 a 15 anos	5 (6,8)
RAÇA	
SRD	50 (67,6)
Pitbull	4 (5,4)
Mestiço de Pitbull	3 (4,0)
Mestiço de Boxer	2 (2,7)
Boxer	1 (1,35)
Mestiço de Pastor Alemão	2 (2,7)
Pastor de Malinois	1 (1,35)
Labrador	1 (1,35)
Pastor Alemão	1 (1,35)
Mestiço de Shar-pei	1 (1,35)
Shar-pei	1 (1,35)
Mestiço de Chow-Chow	1 (1,35)
Mestiço de Dobermann	1 (1,35)
Mestiço Teckel	1 (1,35)
Teckel	1 (1,35)
Mestiço Akita	1 (1,35)
Pintscher	1 (1,35)
Vira lata caramelo	1 (1,35)
PROCEDÊNCIA	
Atropelamento	17 (22,97)
Maus tratos	12 (16,22)
De rua	25 (33,78)
Procedência desconhecida	8 (10,81)
Procedência certificada	7 (9,46)
Abandono no DIBEA	5 (6,76)
PATOLOGIA CRÔNICA	
Não	54 (73,08)
Sim	20 (27,0)
USO DE MEDICAMENTO	
Não	64 (86,5)
Sim	10 (13,5)
USO DE ANTIMICROBIANOS (últimos 6 meses)	
Não	60 (93,8)
Sim	14 (6,1)

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Quadro 1 - Relação cães, patologias e medicamentos em uso

CÃO	PATOLOGIA	MEDICAMENTO
5	Não informada	-
7	Não informada	Condroprotetor
10	Dermodicose	Anti pulgas oral
12	Hepatite	Hepatoprotetor
18	Neoplasia no abdômen e seborreia	Furosemida
19	Não informada	-
21	Leishmaniose	Alopurinol
22	Artrose	
23	Otite	
31	Fratura na coluna	-
37	Não informada	-
48	Leishmaniose	Alopurinol
51	Leishmaniose	Alopurinol
57	Espondilose	Gabapentina Condroprotetor
58	Leishmaniose	Alopurinol
59	Leishmaniose	-
60	Não informada	-
68	Disfunção cognitiva senil	
69	Cardiopata	Furosemida Benazepril Ômega 3
70	Leishmaniose	
71	Não informada	-
73	Hérnia e insuficiência renal	-

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Quadro 2 - Relação cães, uso de antimicrobianos e internações

CÃES	USO DE ANTIMICROBIANO	INTERNAÇÃO
3	X	X
12	X	
13		X
18		X
19	X	
22	X	
27	X	X
39	X	
54	X	
55	X	
56	X	
70	X	
71	X	
72	X	
74	X	

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Quadro 3 - Antimicrobianos usados nos últimos 6 meses

CÃES	ANTIMICROBIANO
3	Amoxicilina, penicilina, enrofloxacina
12	Doxiciclina
19	Metronidazol, sulfá + trimetropim
22	Cefalexina, metronidazol, penicilina
27	Amoxicilina com clavulanato de potássio
39	Amoxicilina com clavulanato de potássio
54	Itraconazol, doxiciclina
55	Cefalexina, enrofloxacino, penicilina
56	Cefalexina, penicilina
70	Enrofloxacino
71	Enrofloxacina, penicilina
72	Doxiciclina
74	Penicilina

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Quadro 4 - Cães acesso à área externa por passeio guiado

3	12	26	40	56	70
6	19	27	46	61	72
7	22	34	52	64	73
11	23	36	54	65	74

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Quadro 5 – Caracterização dos animais em que foram encontradas bactérias resistentes

ANIMAL	IDADE (anos)	CANIL	TEMPO NO DIBEA (anos)	BACTÉRIA ENCONTRADA	ACESSO À ÁREA EXTERNA	POCEDÊNCIA	ALIMENTAÇÃO
6	10	2	6	<i>P. aeruginosa</i>	Sim	MT	Ração comercial
7	7	2	7	<i>E. faecalis</i>	Sim	PC	Ração comercial
47	3	14	1	<i>P. putida</i>	Não	R	Ração comercial
56	1	9	1	<i>E. casseliflavus</i>	Sim	A	Ração comercial
64	13	PET	4	<i>E. coli</i>	Sim	MT	Ração comercial
65	6	PET*	2	<i>P. aeruginosa</i>	Sim	MT	Ração comercial
66	3	33	1	<i>E. coli</i>	Não	A	Ração comercial

Legenda: PET - pet place; PET* - canil de madeira ao lado do pet place; A - abandono; MT - maus tratos; PC - procedência certificada; R - resgate.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Pesquisa de Bacilos Gram-negativos produtores de betalactamases

Das 74 amostras coletadas, foram recuperados 7 isolados de BGN, todos de animais diferentes. Destes isolados, 2 mostraram resistência ao ertapenem na triagem inicial. Dos demais tubos de BHI que apresentaram turvação (11), foram isoladas bactérias gram-positivas. Isso se justifica pelo fato de que algumas espécies de Gram-positivos são intrinsecamente resistentes às cefalosporinas, sendo a ceftriaxona incapaz de inibir seu crescimento (GARCÍA-AOLACHE; RICE, 2019).

Os isolados foram identificados avaliando, inicialmente, as características de crescimento no meio cromogênico. Dois isolados sensíveis ao ertapenem apresentaram características macroscópicas de *Pseudomonas* (6 e 65) e foram identificados como *P. aeruginosa* utilizando conjunto de provas bioquímicas para bacilos não fermentadores de glicose. Um terceiro isolado (47), resistente ao ertapenem, apresentou colônia característica de *Pseudomonas* spp., porém sem a presença de odor e pigmento característicos, sendo confirmada como *P. putida*. A identificação deste foi realizada em sistema automatizado - VITEK-2.

O teste de *Blue-carba*, para detecção rápida de carbapenemase, foi realizado com todas as *Pseudomonas* spp. (6, 47 e 65), sendo em todos os casos negativo.

Concomitantemente, foi realizado um teste de sensibilidade para verificar o perfil das bactérias diante das cefalosporinas, carbapenêmicos e polimixinas. Foram testadas ceftazidima e cefepime, únicos medicamentos da classe das cefalosporinas aos quais a bactéria não apresenta resistência intrínseca, os carbapenêmicos meropenem e imipenem e a polimixina (*drop spot*).

Dos três isolados testados, nenhum apresentou sensibilidade às cefalosporinas. Em relação aos carbapenêmicos, os dois isolados de *P. aeruginosa* (6 e 65) mostraram sensibilidade ao meropenem, enquanto o isolado de *P. putida* mostrou resistência tanto ao imipenem quanto ao meropenem. Ainda, nenhum isolado mostrou resistência a polimixina, conforme demonstrado no quadro 6.

Quadro 6 - Verificação de sensibilidade a cefalosporinas, carbapenêmicos e polimixina

ANTIMICROBIANOS	6 (<i>P. aeruginosa</i>)	47 (<i>P. putida</i>)	65 (<i>P. aeruginosa</i>)
CAZ 10	R	I	I
CZA 14	S	S	S
FEP 30	I	I	I
IMP 10	R	R	I
MEM 10	S	R	S
Polimixina	S	S	S

Legenda: S - sensível; I - intermediário (sensível ao aumento de dose); R - resistente.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Os demais crescimentos (18, 43, 64 e 66), mostraram crescimento em tonalidade rosada no meio cromogênico, sugestivas de *E. coli*, sendo três sensíveis ao ertapenem (18, 64 e 66) e uma resistente (43), no primeiro momento, entretanto, o crescimento não estava puro. Após reisolamento em ágar MacConkey, o BGN isolado mostrou sensibilidade ao ertapenem. Destas, apenas a 64 e 66 foram positivas para produção de ESBL quando testadas por disco-combinado.

Para traçar o perfil de sensibilidade aos betalactâmicos apresentado pelos isolados de *E. coli* 18 e 43, foram testados, por disco-difusão, representantes das diferentes subclasses incluindo aminopenicilina isolada e combinada com inibidor de betalactamase, cefamicina, cefalosporinas de terceira e quarta geração e carbapenêmicos. À vista disso, ambas apresentaram perfil sugestivo de produção de penicilinas, considerando a resistência apresentada a ampicilina e a sensibilidade à combinação ampicilina + sulbactam e a manutenção da sensibilidade aos antimicrobianos das outras subclasses (quadro 7). A resistência a classe das penicilinas é comum em *E. coli*, podendo alcançar índices superiores a 70% avaliando isolados hospitalares e de criação de aves e suínos (CUNHA, 2021).

Em resumo, dos isolados testados, foram encontradas apenas BGN produtores de betalactamases de espectro estendido, sendo que nenhum mostrou produção de carbapenemases nos testes fenotípicos realizados, conforme demonstrado na quadro 8.

Quadro 7 - Resultados dos testes fenotípicos

ANTIMICROBIANO	18	43
CAZ	S	S
CTX	S	S
AMP	R	R
FEP	S	S
SAM	S	S
MER	S	S
CFO	S	S
ETP	S	S
IPM	S	S

Legenda: S - sensível; R - resistente.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Quadro 8 – Resumo das resistências dos BGNs encontrados

BACTÉRIA ISOLADA	N	R ertapenem (triagem)	POSITIVOS PARA:	
			ESBL	<i>Blue-carba</i>
<i>Eschericia coli</i>	4	1	2	NR
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	0	0	0
<i>Pseudomonas putida</i>	1	1	0	0

Legenda: N - número de amostras; R - resistente; NR - não realizado.

Fonte: elaborado pela autora.

Pesquisa de *Enterococcus* spp.

Das 43 amostras que apresentaram turvação no meio primário de incubação, observou-se crescimento com hidrólise da bile esculina em 35 placas de meio Enterococcosel, sendo que em 11 houve crescimento dentro de um halo < 12 mm do disco de VAN 5 µg. Após realização das provas de identificação, dois isolados foram identificados como *Enterococcus* spp. (7 e 56). As espécies foram identificadas em

sistema automatizado Vitek-2, como sendo *E. faecalis* e o isolado 56 com possibilidade de ser *E. casseliflavus*, *E. faecium* ou *E. gallinarum*.

A partir destas possibilidades, em laboratório a bactéria 56 foi testada para motilidade com resultado positivo e semeada em meio ágar chocolate (RENYLAB®), para visualização das colônias, que apresentaram coloração amarelada característica indicativa de *E. casseliflavus*, sendo o único, dentre os principais *Enterococcus*, que apresenta pigmento amarelo (COLLINS *et al.*, 1984).

6 DISCUSSÃO

Dos 74 cães que constituíram a amostra, obtivemos 2 isolados produtores de ESBL e 2 isolados resistentes a vancomicina. Ainda, isolamos 3 bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* que mostraram resistência a pelo menos um dos carbapenêmicos testados (ertapenem, meropenem e imipenem), e dois isolados de *E. coli* resistentes a penicilinas. Entretanto, nenhum isolado foi produtor de carbapenemase. Destes isolados, 3 procederam de animais fêmeas e 6 de machos. Esse perfil é condizente, considerando a composição da amostra, em que a população de machos (49/74) foi maior que a de fêmeas. A idade e o tempo de permanência no DIBEA, variou entre os animais em que bactérias resistentes foram encontradas, não sendo possível inferir a influência dessas variáveis sobre a colonização.

Relacionado a patologias crônicas, apenas o cão 7 apresenta, porém não teve relatada a sua doença. Este faz o uso contínuo de condroprotetor, uma classe de medicamentos responsável pela proteção da cartilagem articular, utilizada em pacientes que apresentam osteoartrite, doença que afeta as articulações, devido à degeneração da cartilagem articular e a alterações funcionais químicas e mecânicas por conta de idade mais avançada ou fraturas (BIONDI *et al.*, 2012).

No que diz respeito à alimentação dos animais, a mesma pode influenciar no microbioma, sendo a composição e o macronutriente principal, os principais responsáveis pela manutenção ou alteração da população de microrganismos (PILLA; SUCHODOLSKI, 2019). Em estudo relatado na revista *New Science* (2020), em rações comerciais secas há uma menor probabilidade de encontrar bactérias, ao

contrário das alimentações cruas e enlatadas (NEW SCIENCE, 2020), sendo assim, podemos inferir um menor risco para estes cães abrigados, sendo a alimentação um fator pouco influente na pesquisa visto que, todos os nove cães que tiveram bactérias detectadas se alimentam de ração comercial.

A investigação acerca do contato dos animais com profissionais de saúde humana e a correlação com encontro de bactérias resistentes, tem por base estudos realizados que demonstraram que o contato próximo com humanos que trabalham na área da saúde, aumenta a probabilidade de colonização dos animais por bactérias resistentes (BHAT, 2021). Outro estudo envolvendo trabalhadores da área da saúde observou que as interações entre esses profissionais e os pacientes resultaram na contaminação de luvas e aventais por microrganismos resistentes, destacando a presença de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente e *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina como exemplos (MORGAN *et al.*, 2012). Pode-se então inferir que os cães do abrigo apresentam menor probabilidade de contaminação, visto que, interagem rotineiramente com as mesmas pessoas, não tendo contato frequente e por tempo prolongado com profissionais da saúde.

Avaliando a resistência antimicrobiana e as características dos animais, podemos notar que dos animais dos quais foram obtidos isolados resistentes, a maioria tinha acesso ao ambiente externo. Considerando que algumas das bactérias encontradas são mais comumente vistas no ambiente como solo, plantas e água, como é o caso da *P. putida* (PETER *et al.*, 2017) e *E. casseliflavus* (MONTICELLI, 2018), pode haver uma relação entre a colonização por essas bactérias e a maior exposição a ambientes externos.

Dentre os bacilos gram-negativos encontrados, três diferentes espécies foram identificadas, com um predomínio de *E. coli*, fator que pode ser justificado por conta de que essa bactéria é uma das principais colonizadoras do intestino animal (ESPINOSA-GONGORRA *et al.*, 2015). Entretanto, somente as encontradas nos cães 64 e 66 apresentaram betalactamases de espectro estendido. Essas são expressas conforme os genes que carregam, podendo ser *bla*_{CTX-M} (cefotaximase) com maior atividade contra cefotaxima e ceftriaxona, *bla*_{SHV} (sulfidril variável) com um maior nível de resistência à ceftazidima, e *bla*_{TEM} (temoneira), sendo esses os encontrados *Enterobacterales*, como é o caso das *E. coli*, que se referem à essas duas amostras

(CARVALHO *et al.*, 2016; SEYEDJAVADI; GOUDARZI; SABZEHALI, 2016). A resistência global às cefalosporinas de amplo espectro em países em desenvolvimento já ultrapassa os 50% em *Enterobacterales*, especialmente em *E. coli* de pacientes que deram entrada em hospital de Cairo, no Egito e de águas poluídas de Portugal, possivelmente devido ao uso clínico extensivo e exagerado de antimicrobianos. Isso tem levado à investigação dos mecanismos envolvidos nessa resistência. Embora, até recentemente, as variantes TEM e SHV fossem as ESBLs mais produzidas, nos últimos anos esse perfil vem mudando, com as cepas de *E. coli* que expressam CTX-M (RAMADAM *et al.*, 2019; TACÃO *et al.*, 2022).

O animal 64 é uma fêmea, SRD de 13 anos, que chegou ao DIBEA há 4 anos por maus tratos e tem acesso à área externa. Já o 66 é um macho, da raça Pitbull e tem 3 anos, com entrada no DIBEA há um ano atrás por conta de atropelamento. Ambos são alimentados com ração comercial, sem patologias crônicas, não fazem uso de medicamentos de uso contínuo, assim como nos últimos 6 meses não precisaram ser internados nem fazer o uso de antimicrobianos. Em uma pesquisa com cães militares alemães foi notado que de 20 animais que carregavam produtores de ESBL, 16 não haviam passado por tratamento medicamentoso nos últimos 12 meses (BOEHMER *et al.*, 2018). Apesar do uso de antimicrobianos ser apontado como fator de risco para presença de microrganismos resistentes, nem sempre essa relação é direta, uma vez que, a exposição pode ser através do convívio próximo ou do contato com o ambiente.

Os genes de resistência que expressam ESBL da *E. coli* são encontrados nos plasmídeos, ou seja, em elemento móvel da bactéria, o que é um grande impulsionador do problema da RAM, visto a facilidade de transmitir horizontalmente resistência a outras bactérias e, conseqüentemente, entre os animais e humanos (PUVACA; FRUTOS, 2021). Esse fato pôde ser percebido, em pesquisa realizada em Cabo Verde que, em 29 cães, foram isolados 48 produtores de ESBL. Destes, 29 eram *E. coli*, sendo 11 animais com a presença de mais de um isolado. Esses foram de *Klebsiella pneumoniae* (8.33%), *Morganella morganii* (8.33%), *Citrobacter freundii* (6.25%), *Proteus mirabilis* (6,25%), *Escherichia vulneris* (6.25%), *Enterobacter cloacae* (2.08%) e *Proteus sp.* (2.08%) (MATOS *et al.*, 2023). Contudo, dentre os animais em que essas bactérias foram encontradas, nenhum deles apresentou outra

bactéria com alguma resistência aos antimicrobianos testados, além de não serem alocados nos mesmos canis, de procedências e tempo de abrigados diferentes.

Os perfis de resistência destas bactérias foram diferentes, sendo duas com penicilinas, conclusão feita a partir da resistência à ampicilina e sensibilidade à ampicilina + sulbactam observada nas amostras 18 e 43. Já as outras duas, 64 e 66, com perfil ESBL. Em uma pesquisa realizada no Chile a partir de *swab* retal de cães de estimação, de 224 amostras de *E. coli* encontradas, 68,3% (217) mostraram-se resistentes à ampicilina, 24,1% (54) se mostraram produtoras de ESBL, e 34,4% (77) como multirresistentes, tendo apenas sete sensíveis a todos os antimicrobianos testados (GALARCE *et al.*, 2022).

A segunda bactéria mais encontrada foi *Pseudomonas aeruginosa*. Trata-se de um BGN não fermentador, ubíquo, oportunista, agente mais comum de infecções nosocomiais e importante causa de morbidade e mortalidade em pacientes com fibrose cística e indivíduos imunocomprometidos (PANG *et al.*, 2019). Em cães, é comumente encontrada em casos de otite, pioderma e infecções de trato urinário (YUKAWA *et al.*, 2017). Pode ser encontrada em ambientes externos, seja em solo ou na água, além de sítios de infecção, visto sua tolerabilidade de temperatura (4 - 42°C) e facilidade de adaptação em ambientes (DIGGLE; WHITELEY, 2019).

Em investigação realizada por Pereira *et al.* (2009) com 30 amostras de fezes de cães saudáveis no Rio de Janeiro, foram isoladas duas cepas de *P. aeruginosa* (PEREIRA *et al.*, 2009), em nossa investigação, também houve 2 isolamentos de *P. aeruginosa*, entretanto nossa amostra foi maior. Ao avaliar os dados dos animais portadores dessa espécie, constata-se que ambos têm acesso à área externa por passeios guiados, fato que pode ter contribuído para colonização, considerando o caráter ubíquo da bactéria. Em uma investigação microbiológica realizada com amostras de areia de praças de um município do Paraná foi identificada presença tanto de *P. putida*, quanto de *P. aeruginosa* (KOCHINSKI, 2020), confirmando a disseminação ambiental da mesma.

Em relação ao perfil de sensibilidade dos isolados de *P. aeruginosa*, observamos que as duas cepas apresentaram crescimento fora do halo de inibição considerado para triagem de resistência ao ertapenem e foram sensíveis ao meropenem, já em relação ao imipenem, uma cepa apresentou resistência e outra

sensibilidade aumentando exposição. Dados da literatura sugerem que os níveis plasmáticos de ertapenem livre excedem brevemente a concentração inibitória mínima (CIM) para a maioria das cepas de *P. aeruginosa* (NIX; MAJUMDAR; DINUBILE, 2004; LIVERMORE *et al.*, 2001; FUCHS; BARRY; BROWN, 2001), o que contraindica o uso do fármaco no tratamento de infecções por essas bactérias. Nesse caso, o ertapenem é utilizado somente para triagem de resistência aos carbapenêmicos.

Os mecanismos de resistência apresentados por cepas de *Pseudomonas aeruginosa* são classificados em intrínsecos, adquiridos e adaptativos. A resistência intrínseca inclui baixa permeabilidade da membrana externa, expressão de bombas de efluxo que expõem antimicrobianos para fora da célula e a produção de enzimas inativadoras de antimicrobianos. A resistência adquirida é caracterizada por transferência horizontal de genes de resistência ou mutações. Já a resistência adaptativa envolve a formação de biofilmes que limitam o acesso do medicamento às células bacterianas, favorecendo as infecções prolongadas e recorrentes (PANG *et al.*, 2019).

Já o perfil de sensibilidade apresentado diante dos demais carbapenêmicos, corrobora com o observado por Gales (2002) em estudo que comparou a atividade antimicrobiana dos carbapenêmicos no qual o meropenem mostrou ser duas vezes mais potente que o imipenem sobre amostras de *P. aeruginosa* (GALES *et al.*, 2002). Esse comportamento pode estar associado à presença de bomba de efluxo. Os sistemas de efluxo são estruturas codificadas de maneira cromossomal e amplamente expressos em bactérias gram-negativas, sendo categorizados em 5 famílias. Os principais sistemas de efluxo da superfamília RND (resistance-nodulation-division) expressos em *P. aeruginosa* são *MexAB-OprM*, *MexCD-OprJ*, *MexEF-OprN* e *MexXYOprM* (CHOUDHURY *et al.*, 2015; PAN *et al.*, 2016). O sistema *MexEF-OprN* possui a capacidade de extrusão para imipenem, fluoroquinolonas, cloranfenicol e trimetoprim. Bactérias que possuem os genes reguladores para esse sistema podem apresentar superexpressão de *MexEF-oprN* e redução da produção de porinas *OprD* e conseqüente resistência aos carbapenêmicos, como imipenem (CHEIN, 2016).

Das cepas de *P. aeruginosa* isoladas dos animais do abrigo, nenhuma apresentou produção de carbapenemases, entretanto, outros autores relataram isolamento de cepas produtoras de carbapenemases em animais de estimação

(WANG, 2014; FERNANDES, 2018), incluindo uma suspeita de transmissão de um cão para uma pessoa (FERNANDES, 2018).

P. putida, por sua vez, é um patógeno oportunista, até pouco tempo tido como de baixo potencial patogênico, habitualmente encontrada no solo e na água (PETER *et al*, 2017). Contudo, atualmente é reconhecido como patógeno emergente em infecções associadas a assistência em saúde, especialmente em imunocomprometidos (TAN *et al.*, 2019). Ainda, segundo alguns estudos, *P. putida* pode adquirir resistência aos betalactâmicos e alguns isolados são capazes de produzir metalo-betalactamases (DOCQUIER *et al*, 2003; ALMUZARA *et al*, 2007; BOGAERTS *et al*, 2008), sendo aventada inclusive a possibilidade de transferência de genes de resistência entre esta e *P. aeruginosa* (JUAN *et al*, 2010). A cepa isolada em nossa pesquisa mostrou resistência aos carbapenêmicos, entretanto, não foi detectada produção de carbapenemase no teste *Blue-carba*. Considerando que a produção de enzimas carbapenemases é um dos mecanismos mais comuns de resistência aos betalactâmicos em BGN, contudo, no gênero *Pseudomonas*, corresponde a menos de 10%, sendo a resistência relacionada a outros mecanismos. Não encontramos artigos reportando o isolamento dessa bactéria em animais de estimação.

A bactéria 47 foi encontrada em uma fêmea de 3 anos, identificada como vira lata caramelo, vinda da rua. Está no DIBEA há 1 ano, tendo seu calendário vacinal completo, alimentada com ração comercial, e sem apresentar problemas de saúde que implicassem na necessidade de internação, uso de antimicrobianos ou uso contínuo de medicamento nesse tempo. Por fim, assim como os outros cães, não tem contato com profissionais da área da saúde humana e não tem acesso a ambiente externo ao abrigo.

Em relação aos *Enterococcus* spp., apenas dois dos crescimentos apresentaram resistência à vancomicina. O gênero pertence aos gram-positivos, apresentando-se de forma cocoide, tanto isolados como em cadeias curtas. São anaeróbios facultativos, viáveis em temperatura entre 10° e 45°C, e em pH entre 4,0 a 9,6, bem como apresentam alta tolerância ao sal (LEME; FERREIRA, 2001; KONEMAN, 2001). A motilidade é variável, sendo que dentre as duas espécies

identificadas, o *E. faecalis* é imóvel, diferentemente do *E. casseliflavus* que é móvel (DONATO, 2007).

A espécie encontrada no animal 7, *E. faecalis*, é mais amplamente conhecida, por integrar a microbiota do trato gastrointestinal (TGI) de animais e humanos e por causar infecções oportunistas em humanos, sendo responsável por cerca de 80 - 90% dos casos de infecções hospitalares por *Enterococcus* (GOH *et al.*, 2017). Contudo, há alguns relatos de isolamento dessa espécie em infecções de trato urinário, periodontites e endocardites em cães, se encontrando também em ambientes hospitalares (ZHOU *et al.*, 2019). Essa espécie expressa principalmente os genes *vanA* que confere resistência à vancomicina e teicoplanina e *vanB*, responsável pela também resistência à vancomicina e sensibilidade à teicoplanina, pela modificação dos aminoácidos-alvo da vancomicina. Estudo realizado em 1998 (LIGOZZI; LO CASCIO; FONTANA) confirmou que esses genes são capazes de propagar para outros gêneros bacterianos, visto que ambos estão localizados em elementos móveis, Tn1546 e Tn1547, respectivamente.

E. casseliflavus, encontrado no cão 56, se mostra diferente dos outros cocos mais amplamente conhecidos, visto seu pigmento amarelo, que foi a característica que o nominou. Assim como *E. faecalis*, está presente no TGI, contudo expressa uma baixa patogenicidade e, diferentemente desta, não é encontrado com frequência no ambiente hospitalar, porém é comumente encontrado em solo, água e plantas (MONTICELLI, 2018). É uma espécie que apresenta resistência intrínseca de baixo nível à vancomicina e sensibilidade à teicoplanina, pela expressão do gene *vanC*, visto que esses organismos produzem precursores de peptidoglicano com menor afinidade pela vancomicina, implicando em uma menor permeabilidade do fármaco na célula bacteriana (ARIAS; MURRAY, 2013; LOYOLA, 2015; YOSHINO, 2023).

Ambos os animais (7 e 56) têm procedência certificada, com calendário vacinal completo, alimentavam-se de ração comercial e com acesso à área externa por passeios guiados. O animal 56, nos últimos 6 meses precisou fazer o uso de cefalexina e penicilina, fármacos para os quais os *Enterococcus* são intrinsecamente resistentes (BrCAST, 2023).

Na China, uma pesquisa foi realizada com 610 amostras (fecal e *swab* retal) de cães e gatos, onde foram encontrados 469 cepas de *Enterococcus* spp., sendo,

aproximadamente, 27,3% dessas *Enterococcus faecalis* e nenhum *E. casseliflavus* (YUAN et al., 2023). Contudo, em outro estudo, este na Itália, foram encontrados *E. casseliflavus* em 15 amostras (13%), além de *E. faecalis* (36; 31,3%) porém nenhum deles apresentou resistência à vancomicina (ISEPPI, 2015). Outro estudo realizado em Istambul, a partir de *swab* retal de cães, detectou a presença de *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina (VRE). Neste, a taxa de isolamento de VRE foi de 14% (12), sendo 4 destes identificados como *E. casseliflavus* com presença do gene *vanC2* e 8 identificados como *E. gallinarum* com gene *vanC1*. (BAĞCIGİL; KOENHEMSİ; ÇELİK, 2016). Por fim, pesquisadores da Malásia em uma metanálise, concluíram que há uma maior prevalência de *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina em cães, quando comparado a outros animais de estimação, apontando possível transmissão para humanos (WADA; IREKEOLA; et al., 2021).

Para minimizar a resistência bacteriana existem medidas de precaução de contato, indicação de uso de EPIs, higienização de mãos e ambiente e limitar o compartilhamento de utensílios e instrumentais utilizados na assistência aos animais (PIMENTEL et al, 2015), sendo assim sugerido como medidas para se tentar evitar essa possível transmissão de perfis de resistência, a adoção de reforço nos cuidados quanto à utilização de EPIs e higienização frequente das mãos e dos canis.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho visou avaliar a colonização de cães por bactérias resistentes, visto a problemática da resistência à antimicrobianos ser crescente nos últimos anos e, com uma previsão de gerar até 10 milhões de mortes anuais em 2050. Dessa forma, e com especulações mais recentes de que animais de companhia pudessem ser um reservatório de bactérias resistentes, a pesquisa foi realizada a partir de *swab* retal canino. Investigamos a colonização intestinal por bacilos gram-negativos produtores de ESBL e carbapenemases e *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina.

Na investigação de BGN resistentes, isolamos 2 cepas de *Escherichia coli* produtoras de ESBL. Encontramos ainda, 3 isolados de *Pseudomonas* spp., sendo 2 *P. aeruginosa* e 1 *P. putida*, esta última resistente tanto a meropenem quanto a

imipenem. Entretanto nenhum dos BGN isolados foi positivo para produção de cabapenemases.

Na investigação de *Enterococcus* spp resistentes à vancomicina, encontramos 2 isolados resistentes. Um isolado da espécie *E. faecalis* e outro *E. casseliflavus*, sendo que na última espécie esse fenótipo é esperado.

Nossos resultados mostraram taxas de colonização por bactérias resistentes inferiores às encontradas em outros estudos realizados com cães, entretanto, o tamanho da amostra, bem como, o fato da população avaliada ter pouco contato com humanos e com o ambiente externo pode ser um fator que contribuiu para esse resultado. O pequeno número de bactérias resistentes encontrado também limitou a identificação de fatores que poderiam favorecer a colonização.

Embora o número de bactérias resistentes tenha sido pequeno, acreditamos que medidas como garantir a boa limpeza dos canis, a correta higienização das mãos e áreas que tiveram em contato com os animais, a realocação de cães mais debilitados e com lesões na pele para canis separados dos demais, são medidas que podem minimizar o risco de disseminação de bactérias entre os animais.

REFERÊNCIAS

- AHMED, M. O.; BAPTISTE, K. E. Vancomycin-Resistant Enterococci: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Perspectives of Human and Animal Health. **Microbial Drug Resistance**, v. 24, n. 5, p. 590–606, jun. 2018.
- ANDERSSON, Dan I.; HUGHES, Diarmaid. Selection and Transmission of Antibiotic-Resistant Bacteria. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 4, p. 1–17, 2017.
- Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, p. 629-655, jan. 2022. Disponível em: <<https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736%2821%2902724-0>>.
- Antimicrobial Resistance Division. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022. **World Health Organization**. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>>.
- ANTUNES, Luis. De onde virão os novos antibióticos?. [S. l.], 2022. Disponível em: <https://cienciahoje.org.br/artigo/de-onde-virao-os-novos-antibioticos/>. Acesso em: 15 nov. 2023.
- BAĞCIGİL *et al.* Examination of Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) Isolated from Canine and Feline Rectal Swabs. **J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ**, v. 42, n. 2, p. 111-116, 2016. Disponível em: <<https://www.actavet.org/Content/files/sayilar/18/111-116.pdf>>.
- BALSALOBRE, L.; BLANCO, A.; ALARCÓN, T. Beta-Lactams. Em: **Antibiotic Drug Resistance**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2019. p. 57–72.
- BARAN, Aleksandra; KWIATKOWSKA, Aleksandra; POTOCKI, Leszek. Antibiotics and Bacterial Resistance—A Short Story of an Endless Arms Race. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, mar. 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10056106/>>.
- BELAS, Adriana *et al.* Sharing of Clinically Important Antimicrobial Resistance Genes by Companion Animals and Their Human Household Members. **Microbial Drug Resistance**, v. 26, n. 10, p. 1174–1185, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32354251/>>.
- BIONDI, S.; CHUGUNOVA, E.; PANUNZIO, M. From Natural Products to Drugs. Em: **Studies in Natural Products Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2016. v. 50p. 249–297.
- BIONDI, M. *et al.* The chondroprotector role in the osteoarthritis of the knee. **Italian Journal of Orthopaedics and Traumatology**, v. 39, n. 18, p. 44–47, 17 abril 2013.

BOEHMER, T. et al. Phenotypic characterization and whole genome analysis of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria isolated from dogs in Germany. *PLOS ONE*, v. 13, n. 10, p. e0206252, 26 out. 2018.

BRASIL. ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Prevenção de infecções por microrganismos multirresistentes em serviços de saúde. . [S.l.: s.n.], 2021. Disponível em: < <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/manual-prevencao-de-multirresistentes7.pdf>>.

BRASIL.; MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, Pecuária e Abastecimento. Guia de Uso Racional de Antimicrobianos para Cães e Gatos. [S.l.: s.n.], 2022. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/publicacoes/livroantimicrobianosv22.pdf>>.

BREIJYEH, Z.; JUBEH, B.; KARAMAN, R. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules*, v. 25, n. 6, p. 1340, 16 mar. 2020.

CALDERÓN, C. B.; SABUNDAYO, B. P. Antimicrobial Classifications. 2007. Censo Pet IPB: com alta recorde de 6% em um ano, gatos lideram crescimento de animais de estimação no Brasil. Disponível em: <<https://institutopetbrasil.com/fique-por-dentro/amor-pelos-animais-impulsiona-os-negocios-2-2/>>.

Censo Pet IPB: com alta recorde de 6% em um ano, gatos lideram crescimento de animais de estimação no Brasil. Disponível em:

CETINKAYA, Yesim; FALK, Pamela; MAYHALL, C. Glen. Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clinical Microbioly Reviews*, v. 13, n. 4, p. 686-707, out. 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88957/>>.

CHAI, M H et al. Detection, molecular characterization, and antibiogram of multi-drug resistant and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from pets and pet owners in Malaysia. *Iranian journal of veterinary research*, v. 22, n. 4, p. 277–287, 2021. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35126535><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC8806171>>.

CHEBI. **β -lactam**. [S. l.], 5 out. 2022. Disponível em: <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebid=CHEBI:35627>. Acesso em: 15 nov. 2023.

CHEN, W. et al. Novobiocin binding to NalD induces the expression of the MexAB-OprM pump in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*, v. 100, n. 5, p. 749–758, jun. 2016.

CHMIEDEL, Judith; FALGENHAUER, Linda; DOMANN, Eugen *et al.* Multiresistant extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from humans,

companion animals and horses in central Hesse, Germany. **BMC Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 1–13, 2014.

CHOUDHURY, D. et al. Transcriptional Analysis of MexAB-OprM Efflux Pumps System of *Pseudomonas aeruginosa* and Its Role in Carbapenem Resistance in a Tertiary Referral Hospital in India. **PloS One**, v. 10, n. 7, p. e0133842, 2015.

COLLINS, D. *Enterococcus avium* nom. rev., comb. nov.; *E. casseliflavus* nom. rev., comb. nov.; *E. durans* nom. rev., comb. nov.; *E. gallinarum* comb. nov.; and *E. malodoratus* sp. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 32, n. 2, p. 220-223, 1 abr. 1984.

COSTA-GUTIERREZ, S. B. et al. *Pseudomonas putida* and its close relatives: mixing and mastering the perfect tune for plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, n. 9–10, p. 3351–3367, 2022.

DA COSTA, Anderson Luiz Pena; SILVA JUNIOR, Antonio Carlos Souza. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45, 2017.

DA COSTA, Paulo Martins; LOUREIRO, Luís; MATOS, Augusto J.F. Transfer of multidrug-resistant bacteria between intermingled ecological niches: The interface between humans, animals and the environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 10, n. 1, p. 278–294, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3564142/>>.

DA CUNHA, Caroline Ribeiro. Caracterização fenotípica e molecular de isolados de bacilos gram negativos resistentes aos antimicrobianos encontrados no ambiente hospitalar e na criação de aves e suínos no estado de Santa Catarina. 2021.

DAMBORG, P. et al. Bacterial Zoonoses Transmitted by Household Pets: State-of-the-Art and Future Perspectives for Targeted Research and Policy Actions. **Journal of Comparative Pathology**, v. 155, n. 1, p. S27–S40, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.03.004>>.

DALMOLLIN *et al.* Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, v. 10, 160p., 2020.

DIGGLE, S. P.; WHITELEY, M. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. **Microbiology**, v. 166, n. 1, p. 30–33, jan. 2020.

DOCQUIER, J.-D. *et al.* IMP-12, a New Plasmid-Encoded Metallo- β -Lactamase from a *Pseudomonas putida* Clinical Isolate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**,

v. 47, n. 5, p. 1522–1528, maio 2003). ,

DONATO, Silvia Tavares, 2007.

https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/1764/1/2007_dis_stdonato.pdf

DOS SANTOS, Isabela Carvalho et al. Pet dogs as reservoir of oxacillin and vancomycin-resistant *Staphylococcus* spp. **Research in Veterinary Science**, v. 143, n. August 2021, p. 28–32, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.12.005>>.

DOS SANTOS, Márcia Alves; DE PAIVA, Isabel Cristina; ANDRADE, Erci Gaspar da Silva. *ENTEROCOCCUS* RESISTENTE A VANCOMICINA (VRE): PERFIL GERAL. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v. 4, n. 8, p. 127-139, 13 abr. 2022.

ENANY, Mohamed Elsayed et al. Molecular typing and evaluation of Sidr honey inhibitory effect on virulence genes of MRSA strains isolated from catfish in Egypt. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v. 31, n. 5, p. 1865–1870, set. 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30150182>>.

ESPINOSA-GONGORA, C. et al. Quantitative assessment of faecal shedding of β -lactam-resistant *Escherichia coli* and enterococci in dogs. **Veterinary Microbiology**, v. 181, n. 3–4, p. 298–302, dez. 2015.

ETIKAN, I. Comparison of Convenience Sampling and Purposive Sampling. **American Journal of Theoretical and Applied Statistics**, v. 5, n. 1, p. 1, 2016.

FERNANDES, Miriam R. *et al.* Zoonothroponotic Transmission of Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* , Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 6, p. 1160–1162, jun. 2018. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/24/6/18-0335_article.htm>.

FERNANDES, R.; AMADOR, P.; PRUDÊNCIO, C. β -Lactams: chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance. **Reviews and Research in Medical Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 7, jan. 2013.

FERNANDES, M. R. *et al.* Zoonothroponotic Transmission of Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 6, p. 1160–1162, jun. 2018.

FUCHS, P. C.; BARRY, A. L.; BROWN, S. D. In vitro activities of ertapenem (MK-0826) against clinical bacterial isolates from 11 North American medical centers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 6, p. 1915–1918, jun. 2001).

GALARCE, N. et al. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from household dogs in Chile. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 1233127, 16 ago. 2023.

GARCÍA-SOLACHE, M.; RICE, L. B. The Enterococcus: a Model of Adaptability to Its Environment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 2, p. e00058-18, 30 jan. 2019.

GOH, H. M. S. et al. Model systems for the study of Enterococcal colonization and infection. *Virulence*, v. 8, n. 8, p. 1525–1562, 4 maio 2017.

GRACE, Delia. Review of evidence on antimicrobial resistance and animal agriculture in developing countries. Evidence on Demand. UK: [s.n.], 2015.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. DA S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, p. 667–679, 2010.

HAAG, Andreas F.; ROSS FITZGERALD, J.; PENADÉS, José R. Staphylococcus aureus in animals. *Gram-Positive Pathogens*, p. 731–746, 2019.

HAGEL, S. et al. Multiresistente Erreger. *Zentralblatt für Chirurgie - Zeitschrift für Allgemeine, Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie*, v. 140, n. 04, p. 417–425, 3 jul. 2013. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0032-1328343>>.

HUTCHINGS, Matthew I; TRUMAN, Andrew W; WILKINSON, Barrie. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, v. 51, p. 72-80, out. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31733401/>>.

ISEPPI, R. et al. Antimicrobial resistance and virulence traits in Enterococcus strains isolated from dogs and cats. **New Microbiologia**, v. 38, p. 369-378, 2015.

ISEPPI, Ramona; DI CERBO, Alessandro; MESSI, Patrizia *et al.* Antibiotic Resistance and Virulence Traits in Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) and Extended-Spectrum β -Lactamase/AmpC-producing (ESBL/AmpC) Enterobacteriaceae from Humans and Pets. **Antibiotics**, v. 9, n. 4, p. 152, mar. 2020.

JOHNSON, A. P. et al. Resistance to Vancomycin and Teicoplanin: an Emerging Clinical Problem. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 3, n. 3, p. 280-291, july. 1990.

JONAS, Olga B.; IRWIN, Alec; BERTH, Franck Cesar Jean *et al.* Drug-resistant infections : a threat to our economic future, v.2. **The World Bank**, 2017. Disponível em: < <https://documents.worldbank.org/en/publication/documents-reports/documentdetail/323311493396993758/final-report>>.

JUAN, C. *et al.* Metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas putida* as a reservoir of multidrug resistance elements that can be transferred to successful

Pseudomonas aeruginosa clones. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 3, p. 474–478, mar. 2010

JUNE, C. M. et al. Structural Origins of Oxacillinase Specificity in Class D β -Lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 1, p. 333–341, jan. 2014.

KAMEL, N. A. et al. Insights on the performance of phenotypic tests versus genotypic tests for the detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli in resource-limited settings. **BMC Microbiology**, v. 22, p. 248, 14 out. 2022.

KATAOKA, Y. et al. Identification and Antimicrobial Susceptibility of Enterococci Isolated from Dogs and Cats Subjected to Differing Antibiotic Pressures. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, n. 6, p. 749–753, 2013.

KOCHINSKI, T.; BARBOSA, P.; ROMANELLO, L. Detecção de bactérias potencialmente patogênicas em areias de praças públicas no município de União da Vitória - Paraná. **Luminária**, v. 22, n. 01, 2020.

KYLE, Robert A; STEENSMA, David P.; SHAMPO, Marc A. Howard Walter Floreyd - Production of Penicillin. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 90, p. e63-e64, jun. 2015. Disponível em: < <https://www.mayoclinicproceedings.org/action/showPdf?pii=S0025-6196%2815%2900304-3>>.

LEPAPE, Alain; JEAN, Astrid, WAELE, Jan De *et al.* European intensive care physicians' experience of infections due to antibiotic-resistant bacteria. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 8, p. 1–11, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31908772/>>.

LERMINIAUX, Nicole A.; CAMERON, Andrew D.S. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. **Canadian Journal of Microbiology**, v.

65, n. 1, p. 34–44, 2019. Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30248271/>>.

LIGOZZI, M.; LO CASCIO, G.; FONTANA, R. vanA Gene Cluster in a Vancomycin-Resistant Clinical Isolate of *Bacillus circulans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, n. 8, p. 2055–2059, ago. 1998.

LIVERMORE, D. M. et al. In vitro activities of ertapenem (MK-0826) against recent clinical bacteria collected in Europe and Australia. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 6, p. 1860–1867, jun. 2001.

LOYOLA, P. et al. Factores de riesgo de colonización por *Enterococcus* spp resistente a vancomicina en pacientes pediátricos hospitalizados con patología oncológica. **Revista chilena de infectología**, v. 32, n. 4, p. 393–398, ago. 2015.

MACHADO *et al.* **Antimicrobianos: revisão geral para graduandos e generalistas**. Fortaleza: EdUnichristus, 2019.

MADIGAN, M et al. Brock. Biology of Microorganisms. 13^a ed. San Francisco, CA: Pearson, 2012.

MADIGAN, M. T. **Brock biology of microorganisms**. Fourteenth edition ed. Boston: Pearson, 2015.

MARCHETTI, Laura; BULDAIN, Daniel; CASTILLO, Lihuel Gortari et al. Pet and Stray Dogs as Reservoirs of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli*. *International Journal of Microbiology*, v. 2021, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33564312/>>.

MATOS, A. et al. ESBL-Positive Enterobacteriaceae from Dogs of Santiago and Boa Vista Islands, Cape Verde: A Public Health Concern. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 447, 23 fev. 2023.

MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 2, p. 10.1128/microbiolspec.arba-0009–2017, 29 mar. 2018.

MCLEOD, Monsey et al. A whole-health–economy approach to antimicrobial stewardship: Analysis of current models and future direction. *PLOS Medicine*, v. 16, n. 3, p. e1002774, 29 mar. 2019.

MEDINA, Eva; PIEPER, Dietmar Helmut. Tackling Threats and Future Problems of Multidrug-Resistant Bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol*, v. 398, p. 3–33, 2016.

MILLER, E. L. THE PENICILLINS: A REVIEW AND UPDATE. **Journal of Midwifery & Women's Health**, v. 47, n. 6, p. 426–434, 12 nov. 2002.

MIRANDA, Carla et al. Impact of European pet antibiotic use on enterococci and staphylococci antimicrobial resistance and human health. **Future Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 185–203, fev. 2021.

MIRZAIIE, S. et al. Molecular detection and occurrence of vancomycin resistance genes (van A, B, C1, C2/C3) among *Enterococcus* species isolated from farm ostriches. **Veterinary Medicine and Science**, v. 9, n. 1, p. 226–233, 2023.

MITSCHER, T. L.; LEMKE, E. J. Gentry. Antibiotics and antimicrobial agents. In: “Foye’s principles of medicinal chemistry”, 6th ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2008, Cap. 38, p. 1028-1083.

MONTICELLI, J. *et al.* Clinical management of non-faecium non-faecalis vancomycin-resistant enterococci infection. Focus on *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus/flavescens*. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 24, n. 4, p. 237–246, 1 abr. 2018.

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Microbiology spectrum**, v. 4, n. 2, p. 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016–2015, abr. 2016.

MURRAY, Christopher JL et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629–655, fev. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673621027240>>.

NIKAIDO, Hiroshi; PAGÈS, Jean Marie. Broad-specificity efflux pumps and their role in multidrug resistance of Gram-negative bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 2, p. 340–363, 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21707670/>>.

NIX, D.; MAJUMDAR, A.; DINUBILE, M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ertapenem: An overview for clinicians. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 53 Suppl 2, p. ii23-8, 1 jul. 2004.

NORRIS, Jacqueline M. et al. Factors influencing the behaviour and perceptions of Australian veterinarians towards antibiotic use and antimicrobial resistance. **PloS ONE**, v. 14, n. 10, 2019. Disponível em:

O’NEILL, Jim. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: final report and recommendations. **Review on Antimicrobial Resistance**, mai. 2016. Disponível em: <https://amrreview.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf>.

OPAS. OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente. 27 fev. 2017. Disponível em:

<https://www.paho.org/pt/noticias/27-2-2017-oms-publica-lista-bacterias-para-quais-se-necessitam-novos-antibioticos>. Acesso em: 15 nov. 2023.

OVERGAAUW, Paul A.M. *et al.* A one health perspective on the human-companion animal relationship with emphasis on zoonotic aspects. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 11, p. 1–29, 2020.

PACIOS, Olga *et al.* Strategies to Combat Multidrug-Resistant and Persistent Infectious Diseases. **Antibiotics**, v. 9, n. 65, p. 1–20, 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7168131/>>.

PANG, Z. *et al.* Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology Advances**, v. 37, n. 1, p. 177–192, 1 jan. 2019.

PAN, Y.-P. *et al.* Overexpression of MexAB-OprM efflux pump in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Archives of Microbiology**, v. 198, n. 6, p. 565–571, ago. 2016.

PARELHO, C.; RODRIGUES, A.; GARCIA, P. Resistência a antibióticos : um problema de saúde pública, animal e ambiental. **UAciência, Açoriano Oriental**, p. 24–25, 8 abril. 2018.

PENNA, Bruno *et al.* Comparative genomics of MRSA strains from human and canine origins reveals similar virulence gene repertoire. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021.

PARK, M. *et al.* Revealing oxidative pentose metabolism in new *Pseudomonas putida* isolates. **Environmental Microbiology**, v. 25, n. 2, p. 493–504, fev. 2023.

PASTERAN, F. *et al.* Simple Phenotypic Tests To Improve Accuracy in Screening Chromosomal and Plasmid-Mediated Colistin Resistance in Gram-Negative Bacilli. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 59, n. 1, p. e01701-20, 17 dez. 2020.

PEREIRA, C. S. *et al.* Patógenos isolados do trato gastrointestinal de cães saudáveis no Rio de Janeiro. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.4, p.1000-1001, 2009.

PETER, S. *et al.* Genomic characterisation of clinical and environmental *Pseudomonas putida* group strains and determination of their role in the transfer of antimicrobial resistance genes to *Pseudomonas aeruginosa*. **BMC genomics**, v. 18, n. 1, p. 859, 10 nov. 2017.

PHUKAN, C. *et al.* Emergence of vanA gene among vancomycin-resistant enterococci in a tertiary care hospital of North - East India. **The Indian Journal of Medical Research**, v. 143, n. 3, p. 357–361, mar. 2016.

PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S. The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 498, 14 jan. 2020.

PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S. The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Small Animal Nutrition. v. 51, n. 3, p. 605–621, 1 maio 2021.

PIMENTEL *et al.* Manual de Biossegurança Medicina Veterinária. Centro Universitário CESMAC, 2015.

PINHÃO, Ana Patrícia Brás. Investigação retrospectiva dos casos de infeções multirresistentes em cães e gatos internados na unidade de isolamento e contenção biológica do hospital escolar. 2021. **Universidade de Lisboa**, 2021.

POMBA *et al.* Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 4, p. 957–968, 2017.

PUBCHEM. **Vancomycin**. 24 jun. 2005. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vancomycin#section=3D-Status>. Acesso em: 15 nov. 2023.

PULINGAM, Tjiruchelvi *et al.* Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 170, mar. 2022.

PUTAROV, Nathalia Bortolato; GALENDE, Sharize Betoni. Estudo da relação estrutura química e atividade farmacológica dos antibióticos. **Revista Uningá**, fev. 2011.

QUEIROZ, G. F.; CASTRO, P. F.; MATERA, J. M. Neoplasias abdominais como causa de abdome agudo em cães - estudo retrospectivo (1998-2002). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 206–206, 23 out. 2004.

RAMADANN, Ahmed A. Novel blaCTX-M variants and genotype-phenotype correlations among clinical isolates of extended spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli*. **Scientific Reports**, v. 9, mar. 2019.

ROSSINI, Roberto *et al.* Vaccines Against Antimicrobial Resistance. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. 1048, jun. 2020. Disponível em: <

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32582169/#:~:text=In%20terms%20of%20magnitud e%20the,increase%20of%20antibiotic%20resistant%20microorganisms.>>.

RUBINSTEIN, Ethan; KEYNAN, Yoav. Vancomycin revisited – 60 years later. **Frontiers in Public Health**, v. 2, n. 217, out. 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4215627/>>.

SCHMIEDEL, Judith *et al.* Multiresistant extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from humans, companion animals and horses in central Hesse, Germany. **BMC Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 1–13, 2014.

SELIM, S. Mechanisms of gram-positive vancomycin resistance (Review). **Biomedical Reports**, v. 16, n. 1, p. 7, jan. 2022.

SEYEDJAVADI, Sima Sadat; GOUDARZI, Mehdi; SABZEHALI, Fattaneh. Relation between blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genes and acute urinary tract infections. **Journal of Acute Disease**, v. 5, p. 71-76, jan. 2016.

SFACIOTTE, R. A. P. *et al.* Identification and Characterization of Multidrug-Resistant Extended-Spectrum BetaLactamase-Producing Bacteria from Healthy and Diseased Dogs and Cats Admitted to a Veterinary Hospital in Brazil. **Microb Drug Resist**, v. 27, n. 6, p. 855-864, nov. 2020.

SILHAVY, T. J.; KAHNE, D.; WALKER, S. The Bacterial Cell Envelope. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 5, p. a000414, maio 2010.

SOUZA, Marília M. *et al.* Antimicrobial resistance evaluation of bacteria isolated from infections in small animals in the Umuarama region, Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 804– 813, 2020.

STEFANETTI, Valentina *et al.* Investigation of the antibiotic resistance and biofilm formation of staphylococcus pseudintermedius strains isolated from canine pyoderma. **Veterinaria Italiana**, v. 53, n. 4, p. 289–296, 2017.

STOGIOS, P. J.; SAVCHENKO, A. Molecular mechanisms of vancomycin resistance. **Protein Science : A Publication of the Protein Society**, v. 29, n. 3, p. 654–669, mar. 2020.

SUMMERS, Stacie C.; GALLONI, Allysa; WEBB, Craig B. Impact of specimen type on findings for bacterial composition within the intestinal tract of dogs and cats with and without chronic enteropathy. **American Journal of Veterinary Research**, v. 82, n. 6, p. 494–501, 2021

TACÃO, Marta *et al.* CTX-M-Producing Bacteria Isolated from a Highly Polluted River System in Portugal. **Environmental Research and Public Health**, v. 19, set. 2022.

TAKASHIMA, Gregg K.; DAY, Michael J. Setting the one health Agenda and the human-companion animal bond. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 11, p. 11110–11120, 2014

TAMMA, P. D. *et al.* A Primer on AmpC β -Lactamases: Necessary Knowledge for an Increasingly Multidrug-resistant World. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 69, n. 8, p. 1446–1455, 15 out. 2019.

TAN, G. *et al.* Risk factors and antimicrobial resistance profiles of *Pseudomonas putida* infection in Central China, 2010–2017. **Medicine**, v. 98, n. 44, p. e17812, 1 nov. 2019.

TEIXEIRA, A. R.; FIGUEIREDO, A. F. C.; FRANÇA, R. F. Resistência Bacteriana Relacionada ao Uso Indiscriminado de Antibióticos. **Revista Saúde em Foco**, 2019.
TERRA, Márcia Regina; DA SILVA, Rafaela Sterza. Vancomicina - Um Antimicrobiano de Importância Nosocomial. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 19, n. 3, p. 76-80, jun - ago. 2017.

TOOK, C. L. *et al.* β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. **Journal of Molecular Biology**, v. 431, n. 18, p. 3472–3500, 23 ago. 2019.

UDDIN, T. M. *et al.* Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. **Journal of Infection and Public Health, Special Issue on Antimicrobial Resistance**, v. 14, n. 12, p. 1750–1766, 1 dez. 2021.

VAN BOECKEL, T. P. *et al.* Global trends in antimicrobial use in food animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 18, p. 5649–5654, 5 maio 2015.

VINCZE, Szilvia; STAMM, Ivonne; KOPP, Peter A *et al.* Alarming proportions of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in wound samples from companion animals, Germany 2010-2012. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. 16–18, 2014.

WADA, Y. *et al.* Prevalence of Vancomycin-Resistant *Enterococcus* (VRE) in Companion Animals: The First Meta-Analysis and Systematic Review. **Antibiotics** (Basel, Switzerland), v. 10, n. 2, p. 138, 31 jan. 2021.

WANG, Y. *et al.* IMP-45-producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* of canine origin. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 9, p. 2579–2581, set. 2014.

WEESE, J. S.; GUARDABASSI, L; MORLEY, P S *et al.* ACVIM Consensus Statement on Therapeutic Antimicrobial Use in Animals and Antimicrobial Resistance. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 2, p. 487–498, 2015.

WEIMER, A. et al. Industrial biotechnology of *Pseudomonas putida*: advances and prospects. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 18, p. 7745–7766, 2020.

WILLIAMS, J. D. β -Lactamases and β -lactamase inhibitors. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 12, p. S3–S7, 1 ago. 1999.

XIONG, W.; SUN, Y.; ZENG, Z. Antimicrobial use and antimicrobial resistance in food animals. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 19, p. 18377–18384, jul. 2018.

YIP, D. W.; GERRIETS, V. Penicillin. Em: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554560/> Acesso em: 15 nov. 2023., jan, 2023.

YOSHINO, Yusuke. Enterococcus casseliflavus Infection: A Review of Clinical Features and Treatment. **Infection and Drug Resistance**, v. 16, jan. 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9879772/>>.

YOU, Y.; SILBERGELD, E. K. Learning from agriculture: understanding low-dose antimicrobials as drivers of resistome expansion. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 284, 10 jun. 2014.

YUAN, T. et al. Virulence genes and antimicrobial resistance in Enterococcus strains isolated from dogs and cats in Northeast China. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 85, n. 3, p. 371–378, mar. 2023.

ZHOU, L. et al. H3N2 canine influenza virus and Enterococcus faecalis coinfection in dogs in China. **BMC Veterinary Research**, v. 15, p. 113, 11 abr. 2019.

ANEXO 1

Formulário Informações Gerais

Nome do Animal:	Espécie: () Cão () Felino	Nº Protocolo	Amostra coletada () Oral () Anal
Idade do animal:	Raça:		
Procedência: () Adquirido em canil, gatil ou pet shop () Resgatado/adotado/doado (procedência certificada) () Resgatado/adotado/doado (procedência desconhecida)			Tempo de permanência no domicílio/abrigo:
Calendário vacinal: () Completo () Incompleto () Desconhecido		Alimentação: () Ração comercial () Dieta natural () Dieta BARF () Alimentos consumo humano () Mista	
Faz uso de medicamento contínuo? () Não () Sim. Qual(is)? _____	Uso de antibiótico nos últimos 6 meses? () Não sei () Não () Sim. Qual(is)? _____		
Histórico de internação ou procedimento invasivo últimos 6 meses? () Sim () Não	Pessoa do convívio domiciliar com histórico de internação nos últimos 6 meses? () Sim () Não		
Pessoa do convívio domiciliar é profissional/atua na área da saúde? () Sim () Não	Acesso a ambientes externos? () Não () Sim () Somente passeios guiados		

ANEXO 2



Universidade Federal de Santa Catarina

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Colonização por bactérias resistentes aos antimicrobianos em cães e gatos acolhidos em abrigo de Florianópolis-SC", protocolada sob o CEUA nº 3349240223 (ID 002341), sob a responsabilidade de **Cleonice Maria Michelin** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 06/03/2023.

We certify that the proposal "Colonization by antimicrobial resistant bacteria in dogs and cats welcomed in shelter in Florianópolis-SC", utilizing 123 Dogs (males and females), 20 Cats (males and females), protocol number CEUA 3349240223 (ID 002341), under the responsibility of **Cleonice Maria Michelin** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 03/06/2023.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 04/2023 a 04/2025 Área: Ciências da Saúde

Origem: Não aplicável	sexo: Machos e Fêmeas	idade: 0 a 0 anos	Quantidade: 123
Espécie: Cães		Peso: 0 a 0 kg	
Linhagem: Canis lupus familiaris			
Origem: Não aplicável	sexo: Machos e Fêmeas	idade: 0 a 0 anos	Quantidade: 20
Espécie: Gatos		Peso: 0 a 0 kg	
Linhagem: Felis catus			

Florianópolis, 07 de março de 2023

Luciana Aparecida Honorato
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Vanessa Rafaella Foletto da Silva
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

