

UNIVERSIDADE SANTO AMARO

Doutorado em Saúde Única

Maria Flavia Lopes Guerra

**PESQUISA DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS EM FELINOS DOMÉSTICOS ATENDIDOS NO
HOVET - UNISA**

São Paulo

2025

Maria Flavia Lopes Guerra

**PESQUISA DE ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS EM FELINOS DOMÉSTICOS ATENDIDOS NO
HOVET - UNISA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Saúde Única

Orientador: Prof. Dr. André Maciel Crespilho

Co-Orientadora: Profa. Dra. Adriana Cortez

São Paulo

2025

G613p Guerra, Maria Flávia Lopes.
Pesquisa de enterobactérias resistentes a antimicrobianos em felinos domésticos atendidos No Hovet – UNISA / Maria Flávia Lopes Guerra. – São Paulo, 2025.
33 p.: il., P&B.
Tese. (Doutorado em Saúde Única) - Universidade Santo Amaro, 2025.
Orientador: Prof. Dr. André Maciel Crespilho.
Bibliografia incluída.
1. Bactéria. 2. Zoonose. 3. Carnívoros silvestres. I. Crespilho, André Maciel, orient. II. Universidade Santo Amaro. III. Título.

CDD 610

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

PARECER N. 21/2023.1

Projeto de Pesquisa: "Caracterização de *E. coli* resistentes a antimicrobianos em felinos domésticos atendidos no HOVET – UNISA"

Pesquisador Responsável: Prof. Adriana Cortez

Maria Flavia Lopes Guerra

Curso: Medicina Veterinária

Prezado Pesquisador:

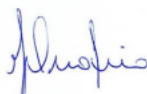
Ao se proceder à análise do processo em questão, coube a seguinte deliberação:

O Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais (**CEUA-UNISA**), seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo animais, conforme a Lei federal nº 11.794 (Lei Arouca), as resoluções do CONCEA, que estabelecem os procedimentos para o uso científico de animais no país e a Lei Estadual nº 11.977/05 que institui o Código de Proteção aos Animais do Estado de São Paulo, deliberando pela **Aprovação** do Projeto "**Caracterização de *E. coli* resistentes a antimicrobianos em felinos domésticos atendidos no HOVET – UNISA**".

*** Prezado responsável, o CEUA solicita:**

- **Relatório ao término do prazo estipulado para a pesquisa.**
- **Ser informado sobre qualquer alteração na metodologia e cronograma informados.**

São Paulo, 23 de outubro de 2023.



PROFA. DRA. VALERIA CASTILHO ONOFRIO

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA
UNISA - Universidade Santo Amaro

Agradecimentos

À Universidade Santo Amaro pelo apoio e concessão de bolsa de estudos.

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e ao Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares (PROSUP) pela bolsa concedida.

RESUMO

A disseminação de bactérias com genes de resistência aos antibióticos se tornou um sério problema de Saúde Pública e Animal. O abuso de antimicrobianos impõe um impacto ambiental, além de envolver animais de companhia, animais de criação, animais selvagens e o homem. Os gatos domésticos podem atuar como carreadores de bactérias resistentes, pois estes além de estarem em contato próximo aos humanos, entram em contato com diversas outras espécies, alimentos e ecossistemas, contribuindo para o mecanismo de propagação destas bactérias. Esta pesquisa teve como objetivo investigar a presença de genes resistências em cepas de *Escherichia coli* isoladas de gatos domésticos atendidos pelo Hospital Veterinário da Universidade Santo Amaro. Foram amostrados um total de 102 felinos domésticos atendidos no HOVET-UNISA entre os meses de novembro de 2023 e agosto de 2024. 40 isolados foram identificados pela técnica de MALDI-TOF MS. As amostras foram testadas para a presença de 14 genes de resistência aos antimicrobianos clinicamente relevantes utilizando PCR: *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{CTX-M9}, *oqx*A, *oqx*B, *qnr*A, *qnr*B, *qnr*S, *tet*A, *tet*B, *sul*1, *sul*2, *aac*(6')-Ib, e *aph*(3')-Ia. Os testes de detecção dos genes de resistência aos antimicrobianos demonstraram que 97,50% (39/40) das cepas apresentaram pelo menos um gene estudado. O gene *tet*(A) foi relacionado ao maior percentual de cepas resistentes apresentando 61,53% (24/39), seguido dos genes, *aac*(6')-Ib e *aph*(3')-Ia, ambos com 58,97% (23/39) cada. O gene *sul*1 foi detectado em 38,46% (15/39), gene *bla*_{CTX-M1} 28,20% (11/39), gene *sul*2 28,20% (11/39), *tet*(B) 25,64% (10/39), *oqx*B 7,69% (3/39), *bla*_{CTX-M9} 5,12% (2/39), *bla*_{CTX-M2} 2,56% (1/39), *qnr*B 2,56% (1/39), *qnr*S 2,56% (1/39), enquanto não houve presença dos genes *oqx*A e *qnr*A. Foi observado que 51,28% (20/39) dos isolados apresentaram genes relacionados a resistência a três ou mais classes de drogas antimicrobianas. O monitoramento da resistência aos antibióticos em bactérias isoladas de felinos domésticos pode auxiliar na caracterização da disseminação de resistência em nosso meio com enfoque em Saúde Única, uma vez que podem funcionar como sentinelas ambientais de um problema que atinge a Saúde Humana, Animal e Ambiental. Maiores estudos são necessários para esclarecimentos do papel do felino doméstico na circulação da RAM.

PALAVRAS CHAVE: Gatos Domésticos; *E. coli*; Resistência aos Antimicrobianos; Tetraciclina; Beta-Lactamases de Espectro Estendido; Saúde Única

ABSTRACT

The spread of bacteria with antibiotic resistance genes has become a serious public and animal health problem. Antimicrobial abuse has an environmental impact, as well as affecting companion animals, farm animals, wild animals, and even humans. Domestic cats can act as carriers of resistant bacteria, as they are in close contact with humans and with several other species, foods, and ecosystems, contributing to the spread of these bacteria. This study aimed to investigate the presence of resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from domestic cats treated at the Veterinary Hospital of the University of Santo Amaro. A total of 102 domestic felines treated at HOVET-UNISA were sampled between November 2023 and August 2024. 40 isolates were identified using the MALDI-TOF MS technique. The samples were tested for the presence of 14 clinically relevant antimicrobial resistance genes using PCR: *bla_{CTX-M1}*, *bla_{CTX-M2}*, *bla_{CTX-M9}*, *oqx_A*, *oqx_B*, *qnr_A*, *qnr_B*, *qnr_S*, *tet_A*, *tet_B*, *sul₁*, *sul₂*, *aac(6')-Ib*, and *aph(3')-Ia*. The antimicrobial resistance gene detection tests demonstrated that 97.50% (39/40) of the strains presented at least one studied gene. The *tet(A)* gene was related to the highest percentage of resistant strains presenting 61.53% (24/39), followed by the genes, *aac(6')-Ib* and *aph(3')-Ia*, both with 58.97% (23/39) each. The *sul1* gene was detected in 38.46% (15/39), *bla_{CTX-M1}* gene 28.20% (11/39), *sul2* gene 28.20% (11/39), *tet(B)* 25.64% (10/39), *oqx_B* 7.69% (3/39), *bla_{CTX-M9}* 5.12% (2/39), *bla_{CTX-M2}* 2.56% (1/39), *qnr_B* 2.56% (1/39), *qnr_S* 2.56% (1/39), while there was no presence of *oqx_A* and *qnr_A* genes. It was observed that 51.28% (20/39) of the resistant isolates are characterized as multidrug-resistant, which means that the strain showed resistance to three or more classes of antimicrobial drugs. Monitoring antibiotic resistance in bacteria isolated from domestic felines can help characterize the spread of resistance in our environment with a focus on One Health, since they can act as environmental sentinels of a problem that affects Human, Animal and Environmental Health.

KEYWORDS: Domestic Cats; *E. coli*; Antimicrobial Resistance; Tetracycline; Extended Spectrum Beta-Lactamases; One Health

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 OBJETIVO.....	15
3 JUSTIFICATIVA.....	15
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
4.1 Isolamento Bacteriano.....	15
4.2 Identificação das Colônias.....	15
4.3. Preparo e Extração de DNA.....	16
4.4. Detecção dos Genes de Resistência por PCR.....	16
5 RESULTADOS.....	18
5.1 Características dos Animais Amostrados.....	18
5.2 Detecção dos Genes de Resistência.....	21
6. DISCUSSÃO.....	25
7 CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

Embora introduzidas há pouco mais de 70 anos e consideradas primariamente como ferramentas indispensáveis na medicina humana, veterinária e nas atividades agrícolas, as drogas antimicrobianas são hoje motivo de preocupação. Seu consumo em larga escala resultou na seleção de bactérias resistentes que agora se constituem em ameaça para a saúde pública, animal e ambiental (MURRAY *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2020;).

De acordo com dados fornecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a resistência antimicrobiana bacteriana (AMR) foi diretamente responsável por 1,27 milhões de mortes em 2019 e contribuindo indiretamente para 4,95 milhões de mortes, sendo apontada entre as dez principais ameaças à saúde pública mundial (ANVISA, 2023; MURRAY *et al.*, 2022)

A bactéria *Escherichia coli* é descrita como bacilo Gram-negativo fermentador de lactose e anaeróbio facultativo, pertencente à família Enterobacteriaceae. É uma das principais enterobactérias da microbiota intestinal de humanos e animais vertebrados. E suas cepas podem ter linhagens comensais ou patogênicas, também utilizadas como indicadora dos níveis de poluição e contaminantes ambientais. É facilmente encontrada na água, solo, alimentos e em diversos ecossistemas (MIDDLETON & AMBROSE, 2005; BOGAARD & STOBBERINGH, 2000).

Devido a sua conhecida habilidade em adquirir, transferir e propagar genes, apresenta grande versatilidade, podendo, no caso de aquisição de genes de virulência, ocasionar desde doenças entéricas até enfermidades extraintestinais (SAYAH *et al.*, 2005). Por outro lado, esta plasticidade genética também possibilita a aquisição e transferência de genes de resistência aos antimicrobianos, além de mutações que levam à alteração do sítio de ligação de determinado agente antimicrobiano, regular produção de enzimas que inativam o princípio ativo, além de alterar a proteína de transporte da membrana externa, o que torna a *E. coli* um importante indicador de resistência antimicrobiana em dado nicho ecológico (COSTA *et al.*, 2008; JAWETZ, MELNICK, ADELBERG, 2014).

Fevre *et al.* (2005) sugere que os genes que codificam as β -lactamases em *Klebsiella oxytoca* estão evoluindo há mais de 100 milhões de anos, portanto é natural e inevitável que ocorra o fenômeno “*Easy-to-get, hard-to-lose*” como parte da evolução e conservação

das espécies bacterianas. Entretanto, o uso intensivo de drogas de amplo espectro nas atividades terapêuticas, agrícolas e produção animal, favoreceu de maneira bastante expressiva a disseminação desse evento (AMINOV & MACKIE, 2007).

Existem três mecanismos principais para a transferência horizontal de genes: conjugação, transdução e transformação; e podem ocorrer em diversos ecossistemas, como solo, água, no alimento, no trato gastrointestinal de humanos e animais. Estudos epidemiológicos indicam a presença na microbiota humana de bactérias resistentes de origem animal, evidenciando a transmissão destes genes entre bactérias de diferentes grupos, hospedeiros, populações e ecossistemas (GOERING, 2014; BOGAARD & STOBBERINGH, 2000; PERRON *et al.*, 2008; BAQUERO *et al.*, 2008).

De acordo com a OMS, a AMR surge quando a cepa bacteriana não pode ser eliminada, ou ter seu crescimento limitado por um agente antimicrobiano ao qual era sensível anteriormente. Esse fenômeno é resultado natural da capacidade dos microrganismos sofrerem mutações, adquirirem elementos genéticos móveis de transferência horizontal, como plasmídeos, transposons e integrons/cassetes gênicos que codificam genes de resistência, além de poderem estar presentes em DNA livre e bacteriófagos, levando a uma variabilidade que favorece os mais aptos quando submetidos à pressão seletiva. É documentada a existência de diversos genes que conferem resistência aos antimicrobianos, cada um com características peculiares. Entretanto, uma cepa bacteriana pode acumular vários genes de resistência a diferentes classes de antimicrobianos, caracterizando-se a multirresistência aos antimicrobianos (MURRAY *et al.*, 2022; ABUSHAHEEN *et al.*, 2020; DAVIES & DAVIES, 2010; PITOUT *et al.*, 2004).

Os antibióticos podem ser agrupados de acordo com seu mecanismo de ação em quatro categorias: inibição da parede celular, alteração da permeabilidade da membrana ou transporte ativo da membrana celular, inibição da síntese de proteína (inibição da tradução e transcrição do material genético) e inibição da síntese do ácido nucleico. A maioria dos agentes antimicrobianos utilizados na rotina clínica e produção agropecuária pertencem a sete famílias principais: penicilinas, cefalosporinas, macrolídeos, aminoglicosídeos, tetraciclina, quinolonas e sulfonamidas (LEE *et al.*, 2012; PITOUT *et al.*, 2004).

Os mecanismos de resistência frequentemente encontrados em *E. coli* são os genes codificadores para enzimas como *Extendend-spectrum beta-lactamase* – ESBL (resistência às penicilinas, cefalosporinas e aztreonam), carbapenemases (resistência aos

cabapenêmicos), 16S rRNA metilases (resistência aos aminoglicosídeos), PMQR – *plasmid mediated quinolone resistance* (resistência às fluorquinolonas), e genes *mcr* (resistência à polimixinas) (POIREL *et al.*, 2018).

Os antibióticos β -Lactâmicos figuram entre os mais antigos grupos de antimicrobianos e possuem grande importância devido ao seu emprego em tratamentos contra uma variada gama de infecções tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária por conta de sua baixa toxicidade, facilidade de aquisição e costume habitual na prescrição. Trata-se de uma classe que constitui uma grande família de compostos antimicrobianos, sintetizados industrialmente ou a partir de microrganismos naturais presente no ambiente, como o *Streptomyces* sp. Estas drogas apresentam anel β -lactâmico em sua estrutura molecular e seu mecanismo de ação consiste na degradação da enzima transpeptidase com consequente inibição da síntese da parede celular bacteriana, podendo ser bactericidas ou bacteriostáticos, com maior ação sob as bactérias gram-positivas (MURRAY, 2022; POIREL *et al.*, 2018; ALANIS, 2005).

A produção de enzimas β -Lactamases é o mais importante mecanismo de resistência de bactérias Gram-negativas aos antibióticos β -lactâmicos. Essas enzimas clivam o anel β -lactâmico fazendo com que ocorra a inativação do princípio ativo, pois este já não é mais capaz de inibir a síntese da parede bacteriana. Esse mecanismo geralmente é transmitido por genes que carreados em plasmídeos, possibilitando a transmissão cepa a cepa e uma rápida disseminação por diferentes vias e gêneros de enterobactérias, pertencentes às mais variadas populações e microbiotas (ABUSHAHEEN *et al.*, 2020; BUSH, 2001; BRADFORD, 2001).

O primeiro relato de detecção de produção de β -Lactamase por Gram-negativa, mediada por plasmídeo, ocorreu na década de 60, em cepa de *E. coli* isolada de hemocultura humana. Em poucos anos essa característica estava disseminada em várias outras bactérias Gram-negativas e podia ser detectada no mundo todo. Seguindo o desenvolvimento de drogas β -lactâmicas que resistiam à ação das β -lactamases, novas enzimas foram surgindo, até que na década de 80 foi descrita pela primeira vez β -lactamase capaz de hidrolisar cefalosporina de amplo espectro, tendo sido denominada de β -lactamase de Espectro Estendido (ESLB – *Extended-spectrum β -Lactamase*) (BRADFORD, 2001).

As β -Lactamases de Espectro Estendido (ESBLs), além de inativarem penicilinas, cefalosporinas de 1^a, 2^a, 3^a e até 4^a geração, cefamicinas, e monobactâmicos, também

costumam apresentar co- ou multirresistência a diversas outras classes antimicrobianas de princípios ativos não- β -lactâmicos, devido às semelhanças em seus mecanismos de resistência, implicando em uma maior dificuldade terapêutica. Além disso, possuem a capacidade de rápida propagação entre os membros da família Enterobacteriaceae e desenvolvimento de novas variantes, representando um grave problema de saúde pública no que diz respeito às infecções nosocomiais e comunitárias (MURRAY, 2022).

As ESBLs têm vários esquemas de classificação que levam em conta características moleculares e/ou funcionais, sendo o mais utilizado apresentado por Bush, Jacoby e Medeiros em 1995, que propõe uma classificação funcional/bioquímica separando as ESBLs em quatro grupos (1 – 4) de acordo com o perfil do substrato, características físicas como peso molecular e ponto isoelétrico (BRADFORD, 2001). De acordo com esse esquema as ESBLs seriam definidas como β -Lactamases com capacidade de hidrolisar penicilinas e cefalosporinas, além de uma ou mais oximino-cefalosporinas, e são inibidas por ácido clavulônico estando no grupo funcional 2be (ABUSHAHEEN *et al*, 2020; BUSH *et al*, 1995).

Os genes que caracterizam as ESBLs pertencem às famílias “TEM e SHV” e eram as mais frequentemente encontradas até os anos 2000, quando houve uma rápida ascensão e disseminação da família CTX-M, sendo hoje estas as mais prevalentes no mundo todo, inclusive em território brasileiro. No Brasil, a primeira enzima do tipo CTX-M foi identificada na década de 1990 (BONNET *et al*, 2000), atualmente elas já são descritas como uma das mais predominantes na América do Sul, sendo os grupos CTX-M-2, CTX-M-8 e CTX-M-9 os mais prevalentes. Estudos brasileiros relatam amostras produtoras de ESBL encontradas em diversas populações humanas, animais e ambientais, sendo isoladas em hospitais, infecções agudas na comunidade, efluentes de esgotos hospitalares, domésticos e agrícolas, alimentos de origem animal como carne de frango para exportação, bem como frutas e verduras contaminadas que também podem estar envolvidas na veiculação de tais agentes (SALGADO-CAXITO *et al*, 2021; SILVA & LINCOPAN, 2012; ROSSI, 2011; BRADFORD, 2001).

A tetraciclina é um antibiótico de amplo espectro e o seu mecanismo de ação consiste em inibir a síntese proteica bacteriana, impedindo a ligação local de aminoacil-tRNA com os receptores da subunidade 30S ribossomal bacteriano. São conhecidos três mecanismos de resistência à tetraciclina: bomba de efluxo, designada por um sistema proteico de transporte ativo onde o antibiótico é bombeado do meio intra celular bacteriano

para o meio extra celular, não permitindo a concentração e a ação do princípio ativo; também há a proteção ribossomal efetuada quando uma proteína plasmática se liga ao ribossomo, impedindo a ligação entre molécula antimicrobiana e o ribossomo, havendo falha no mecanismo de ação do agente antimicrobiano; e por fim, a inativação enzimática, um mecanismo menos frequente, no qual uma proteína solúvel altera a química do antimicrobiano que perde seu mecanismo de ação (ROBERTS, 2010; CHOPRA & ROBERTS, 2001).

Os aminoglicosídeos também são bastante utilizados na terapêutica humana e veterinária, entretanto a indicação é que sejam usados em combinação com outra classe antimicrobiana, como os beta-lactâmicos. Os principais princípios ativos são amicacina, gentamicina, estreptomicina, canamicina, neomicina, tobramicina, cujo mecanismo antimicrobiano consiste em interromper a síntese de proteínas, ligando-se de modo irreversível aos ribossomos bacterianos. A resistência aos aminoglicosídeos se desenvolve por modificação dos alvos, mutando o RNA 16S e/ou proteínas ribossômicas S5 e S12. A modificação do alvo também pode ocorrer pela metilação dos resíduos G1405 e A1408 do sítio A do RNA 16S, os genes que as-identificam são *ArmA*, *RmtA/B/C/D/E/F/G/H* e *NmpA*. Em relação ao mecanismo de resistência por inativação enzimática, sabe-se que as moléculas dos princípios antimicrobianos são inativadas, tornando-se incapazes de atingirem o sítio alvo. São conhecidos três tipos de enzimas inativadoras: acetiltransferase, nucleotidiltransferase e fosfotransferase. As suas variantes relacionadas às acetiltransferases são AAC(3)-II/IV e AAC(6)-Ib; para as nucleotidiltransferases são ANT(2'') e ANT(3''), codificadas pelos genes *aadB* e *aadA*, respectivamente. E as fosfotransferases são APH(6)-Ia e APH(6)-Id, codificadas como *strA* e *strB* (POIREL et al., 2018)

As fluoroquinolonas, como enrofloxacin, difloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina, marbofloxacina, devido ao seu amplo espectro de ação, são uma das classes de antimicrobianos mais utilizadas dentro da medicina humana e veterinária. As fluoroquinolonas inibem a DNA girase, impedindo a abertura da hélice da molécula de DNA durante a replicação do DNA e transcrição para o ácido ribonucleico mensageiro (RNA-m). Em 1998 foi descrita a resistência às fluorquinolonas mediadas por plasmídeos (PMQR – *plasmid mediated quinolone resistance*), sendo identificados cinco grupos de determinantes Qnr (QnrA, QnrB, QnrC, QnrD e QnrS), que realizam a proteção da DNA girase e topoisomerase IV da ação das quinolonas. Outro mecanismo de resistência às fluorquinolonas é a acetiltransferase AAC(6')-Ib-cr, uma proteína que modifica o princípio

ativo de fluorquinolonas como ciprofloxacino e enrofloxacino, além do mecanismo de bombas de efluxo ativas (QepA e OqxAB) (POIREL, 2018; CHEN et al., 2012).

As sulfonamidas são agentes antimicrobianos sintéticos que inibem a síntese do ácido fólico, têm sido utilizadas por décadas como agentes terapêuticos na medicina humana e veterinária. Um dos mecanismos de resistência é a modificação enzimática do sítio-alvo, codificadas pelos genes *sul1*, *sul2* e *sul3* (POIREL et al., 2018)

A resistência aos antibióticos é um dos grandes desafios da Saúde Pública e Animal no mundo, e especialmente no Brasil, onde antimicrobianos de amplo espectro são utilizados em grandes quantidades em hospitais e infecções comunitárias, levando a níveis mais altos de resistência do que é observado na Europa e EUA (ROSSI, 2011; GUENTHER, 2011). No geral, a questão da resistência bacteriana aos antimicrobianos em gatos domésticos é complexa e requer uma abordagem multifacetada. Veterinários, proprietários e pesquisadores desempenham papéis importantes no desenvolvimento de estratégias de combate a resistência antimicrobiana e garantir que os princípios ativos antimicrobianos permaneçam eficazes no tratamento de infecções bacterianas em felinos, embora os gatos domésticos possam não apresentar exposição excessiva aos antimicrobianos comparados aos humanos e animais de produção (JUNG *et al*, 2020; MAYAERT *et al*, 2006). Entretanto, quando as infecções bacterianas em felinos domésticos se tornam resistentes aos princípios antimicrobianos acaba por dificultar, prolongar e encarecer o tratamento podendo impactar em tratamentos mais agressivos ou hospitalizações, o que pode acarretar em transmissão de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos através de contato direto aos seus tutores, principalmente se forem crianças, idosos e pessoas com imunidade comprometidas (GARGANO *et al*, 2022)

De acordo com o levantamento populacional de gatos domésticos realizado em 2021 pelo Censo Instituto Pet Brasil, estima-se uma população de 27,1 milhões de felinos mantidos como pets em lares brasileiros. As populações de felinos domésticos possuem ampla distribuição cosmopolita, sendo encontradas em alta densidade e em diversos ecossistemas, dificultando a determinação dos parâmetros populacionais levando em consideração a presença de gatos domiciliados, semi-domiciliados, e não domiciliados, tornando-se um desafio complexo para abordagem no âmbito da Saúde Única (GARGANO et al, 2022; MCEWEN & COLLIGNON, 2014; LLOYD, 2007).

O monitoramento da resistência aos antibióticos em bactérias isoladas de felinos domésticos pode auxiliar na caracterização da disseminação de resistência em nosso meio

com enfoque em Saúde Única, uma vez que podem funcionar como sentinelas ambientais de um problema que atinge a Saúde Humana, Animal e Ambiental (ARAÚJO *et al*, 2022; SALGADO-CAXITO *et al*, 2021; SILVA *et al*, 2020; SILVA & LINCOPAN, 2012; GUENTHER *et al*, 2011; ROSSI, 2011).

2 OBJETIVO

Esta pesquisa teve como objetivo investigar a presença de genes resistências em cepas de *Escherichia coli* isoladas de gatos domésticos atendidos pelo Hospital Veterinário da Universidade Santo Amaro.

3 JUSTIFICATIVA

A resistência aos antimicrobianos se tornou um sério problema de saúde pública e animal. Apesar da profusão de trabalhos de pesquisa sobre a presença de bactérias resistentes aos antimicrobianos em animais de produção e companhia, poucos são os que relacionam o papel dos felinos domésticos na disseminação de cepas resistentes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Hospital Veterinário da Universidade de Santo Amaro – UNISA, localizado no distrito de Cidade Dutra dentro do município de São Paulo – SP, Brasil. Durante o período de junho de 2023 a novembro de 2024, foram amostrados 102 felinos domésticos atendidos no hospital, dos quais foi obtido um *swab* retail. A amostragem foi realizada por conveniência e todos os responsáveis pelos animais estudados assinaram um formulário de consentimento formal, confirmando a participação do presente estudo de maneira voluntária. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA – UNISA.

4.1 Isolamento bacteriano

Os *swabs* retais foram coletados e mantidos em meio de transporte *Stuart* até a sementeira em ágar *MacConkey*. Foi realizado o esgotamento da amostra de fezes em meio seletivo de ágar *MacConkey* e incubadas a 37°C por 18 a 24h. Três colônias lactose positivas e com morfologia compatível com *E. coli* foram selecionadas ao acaso e

semeadas em ágar sangue por 24 horas. As colônias foram armazenadas em Ágar tryptic soy agar (TSA) 1% e estocadas em temperatura ambiente.

4.2 Identificação das colônias

A identificação dos isolados foi realizada pela técnica da espectrometria de Massa por ionização com dessorção à laser assistido por matriz e analisador de tempo de voo (MALDI-TOF MS) em parceria com laboratório externo.

4.3 Preparo e Extração do DNA de amostras bacterianas

Os isolados foram submetidos a extração de DNA seguindo o protocolo de extração por fervura. Em seguida, a concentração de cada amostra extraída foi avaliada utilizando espectrofotômetro.

4.4 Detecção dos genes de resistências aos antimicrobianos por PCR

As amostras foram testadas para a presença de 14 genes de resistência aos antimicrobianos clinicamente relevantes para o estudo utilizando PCR: *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{CTX-M9}, *oqxA*, *oqxB*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *tetA*, *tetB*, *sul1*, *sul2*, *aac(6')-Ib*, e *aph(3')-Ia*. Os protocolos seguidos estão referenciados, bem como, temperatura de anelamento e tamanho do amplificado serão descritos na tabela 1.

Utilizando o método propostos através de publicações dos autores referenciados na tabela 1, foi realizada a técnica de PCR, preparando a mistura da reação (25 µL) que contém 14,75 µL de água purificada, duplamente destilada, deionizada e autoclavada, 2,5 µL de tampão de PCR 10× sem MgCl₂, 1,75 µL (25 mM) de MgCl₂, 1 µL (25 µM) de cada *primer*, 0,5 µL (10 mmol L⁻¹) de mistura de solução de desoxinucleotídeo, 1 µL (1,25 U) de *JumpStart™ Taq DNA Polymerase (Sigma-Aldrich, EUA)* e 2,5 uL (100 ng) de DNA, utilizando o equipamento *ProFlex™ PCR Thermocycler System (Applied Biosystems, Singapura)*. Os amplicons foram visualizados no *E-Gel® Imager Camera Hood (Life Technologies, Israel)*, após eletroforese em gel de agarose padrão a 1%.

Tabela 1. Descrição dos ciclos de desnaturação, anelamento, extensão e peso dos amplicons de acordo com os protocolos de PCR para detecção de genes de resistências aos antimicrobianos propostos pelos autores referenciados.

Grupos Antimicrobianos	Gene	Denaturação inicial	Denaturação	Anelamento	Extensão	Ciclos	Extensão final	Amplicon length (bp)	Referências
ESBLs	<i>blaCTX-M-Gp1</i>	5 min (94°C)	40 seg (94°C)	40 seg (60°C)	1 min (72°C)	35	7 min (72°C)	326	Dallenne et al., 2010
	<i>blaCTX-M-Gp2</i>	5 min (94°C)	40 seg (94°C)	40 seg (60°C)	1 min (72°C)	35	7 min (72°C)	561	Dallenne et al., 2010
	<i>blaCTX-M-Gp9</i>	5 min (94°C)	40 seg (94°C)	40 seg (60°C)	1 min (72°C)	35	7 min (72°C)	800	Dallenne et al., 2010
Quinolonas	<i>oqxA</i>	5 min (94°C)	1 min (94°C)	1 min (62°C)	1 min (72°C)	35	7 min (72°C)	339	Chen et al., 2012
	<i>oqxB</i>	5 min (94°C)	1 min (94°C)	1 min (62°C)	1 min (72°C)	35	7 min (72°C)	240	Chen et al., 2012
	<i>qnrA</i>	10 min (95°C)	1 min (95°C)	1 min (55°C)	1 min (72°C)	35	10 min (72°C)	580	Cattoir et al., 2007
	<i>qnrB</i>	10 min (95°C)	1 min (95°C)	1 min (55°C)	1 min (72°C)	35	10 min (72°C)	264	Cattoir et al., 2007
	<i>qnrS</i>	10 min (95°C)	1 min (95°C)	1 min (55°C)	1 min (72°C)	35	10 min (72°C)	428	Cattoir et al., 2007
Tetraciclínas	<i>tet(A)</i>	5 min (94°C)	1 min (94°C)	1 min (55°C)	1 min (72°C)	35	5 min (72°C)	210	Ng et al., 2001
	<i>tet(B)</i>	5 min (94°C)	1 min (94°C)	1 min (55°C)	1 min (72°C)	35	5 min (72°C)	659	Ng et al., 2001
Sulfonamidas	<i>sul1</i>	5 min (94°C)	15 seg (94°C)	30 seg (69°C)	1 min (72°C)	30	7 min (72°C)	433	Kern et al., 2002
	<i>sul2</i>	5 min (94°C)	15 seg (94°C)	30 seg (69°C)	1 min (72°C)	30	10 min (72°C)	293	Kern et al., 2002
Aminoglicosídeos	<i>aac(6')-Ib</i>	5 min (94°C)	30 seg (94°C)	40 seg (55°C)	1:30 min (72°C)	45	10 min (72°C)	395	Ploy et al., 1994
	<i>aph(3')-Ia</i>	5 min (94°C)	30 seg (94°C)	40 seg (55°C)	1:30 min (72°C)	45	10 min (72°C)	623	Noppe-Leclercq et al., 1999

5 Resultados

5.1 Características dos animais amostrados

Foram amostrados um total de 102 felinos domésticos atendidos no HOVET-UNISA entre os meses de novembro de 2023 e agosto de 2024, sendo 66,66% (68/102) gatos machos e 33,33% (34/102) gatas fêmeas. Dos 102 gatos, 96,07% (98/102) não possuíam raça definida (SRD) e 3,92% (4/102) possuíam raças definidas, de acordo com seus responsáveis. Em relação à castração, 72,54% (74/102) dos gatos eram castrados, enquanto 27,45% (28/102) não eram castrados.

Ao analisar os gatos amostrados de acordo com a faixa etária seguiram-se as diretrizes de Estágio de Vida Felina (*2021 AAHA/AAFP Feline Life Stage Guidelines*) (QUIMBY *et al.*, 2021). As fases de vida de um gato foram divididas em filhotes (até um ano de idade), jovem adulto (de um a seis anos), adulto maduro (de sete a dez anos) e sênior (acima de dez anos). Com exceção de uma fêmea para a qual não foi informada a idade, observou-se que 18,81% (19/101) tratavam-se de filhotes, 29,70% (30/101) de jovens adultos, 24,75% (25/101) de adultos maduros e 26,73% (27/101) gatos seniores.

Em relação aos gatos que apresentavam diarreia como sinal clínico durante o atendimento veterinário, constataram-se 2,94% (3/102) dos gatos, sendo os três animais, machos e castrados, dois na faixa etária de gatos adultos maduros e um indivíduo caracterizado como sênior. Os dados descritos acima estão relacionados na tabela 2.

Tabela 2. Relação geral dos felinos domésticos atendidos no HOVET-UNISA, dos quais foram colhidos os *swabs* retais, além de dados individuais do animal de acordo com sexo, idade, raça, se é castrado ou inteiro e se apresentava sinal clínico de diarreia na data da amostragem.

GATOS AMOSTRADOS NO HOVET UNISA ENTRE NOV/23 A AGO/24						
ID AMOSTRA	DATA COLETA	SEXO	IDADE	CASTRADO	RAÇA	DIARRÉIA
1	06/11/23	MACHO	4M	NÃO	SRD	-
2	06/11/23	MACHO	8A	SIM	SRD	-
3	07/11/23	MACHO	5A	SIM	SRD	-
4	07/11/23	FÊMEA	14A	SIM	SRD	-
5	07/11/23	FÊMEA	10A	SIM	SRD	-
6	08/11/23	MACHO	3A	SIM	SRD	-
7	08/11/23	MACHO	5A	SIM	SRD	-
8	08/11/23	FÊMEA	8A	NÃO	SRD	-
9	09/11/23	MACHO	6A	SIM	SRD	-
10	09/11/23	MACHO	12A	SIM	SRD	-
11	10/11/23	MACHO	5M	NÃO	SRD	-
12	10/11/23	FÊMEA	6A	SIM	SRD	-
13	13/11/23	MACHO	8A	SIM	SRD	-
14	13/11/23	FÊMEA	13A	SIM	SRD	-
15	13/22/23	MACHO	2A	NÃO	SRD	-
16	13/11/23	MACHO	5A	NÃO	SRD	-
17	13/11/23	MACHO	16A	SIM	ANGORÁ	SIM
18	24/11/23	MACHO	11A	SIM	SRD	-
19	21/11/23	MACHO	15A	SIM	SRD	-
20	24/11/23	MACHO	17A	SIM	SRD	-
21	07/02/24	FÊMEA	12A	SIM	SRD	-
22	07/02/24	MACHO	15A	SIM	SRD	-
23	07/02/24	MACHO	11A	SIM	SRD	-
24	07/02/24	FÊMEA	5A	SIM	SRD	-
25	07/02/24	MACHO	8A	SIM	NEBELUNG	-
26	09/02/24	MACHO	12A	SIM	SRD	-
27	09/02/24	FÊMEA	10A	SIM	SRD	-
28	09/02/24	FÊMEA	12A	SIM	SRD	-
29	09/02/24	FÊMEA	13A	SIM	SRD	-
30	15/02/24	MACHO	12A	SIM	SRD	-
31	05/02/24	MACHO	8A	SIM	SRD	-
32	15/02/24	MACHO	10A	SIM	SRD	-
33	16/02/24	MACHO	9A	SIM	SRD	SIM
34	19/02/24	FÊMEA	13A	SIM	SRD	-
35	19/02/24	FÊMEA	5M	NÃO	SRD	-
36	19/02/24	MACHO	11A	SIM	SRD	-
37	20/02/24	MACHO	12A	SIM	SRD	-
38	20/02/24	MACHO	10A	SIM	SRD	-
39	20/02/24	MACHO	2A	NÃO	SRD	-
40	20/02/24	MACHO	2A	NÃO	SRD	-

GATOS AMOSTRADOS NO HOVET UNISA ENTRE NOV/23 A AGO/24						
ID AMOSTRA	DATA COLETA	SEXO	IDADE	CASTRADO	RAÇA	DIARRÉIA
41	20/02/24	MACHO	1ª6M	NÃO	SRD	-
42	20/02/24	MACHO	8ª	SIM	SRD	-
43	22/02/24	FÊMEA	13ª	SIM	SRD	-
44	23/02/24	MACHO	8ª	SIM	SRD	-
45	23/02/24	MACHO	13ª	SIM	SRD	-
46	23/02/24	FÊMEA	9M	NÃO	SRD	-
47	23/02/24	FÊMEA	8M	NÃO	SRD	-
48	23/02/24	FÊMEA	3M	NÃO	SRD	-
49	23/02/24	MACHO	2ª	NÃO	SRD	-
50	21/03/24	MACHO	3ª	SIM	SRD	-
51	26/03/24	MACHO	9ª	SIM	SRD	-
52	28/03/24	MACHO	17ª	SIM	SRD	-
53	28/03/24	FÊMEA	15ª	SIM	SRD	-
54	28/03/24	FÊMEA	9ª	SIM	SRD	-
55	28/03/24	FÊMEA	6ª	SIM	SRD	-
56	28/03/24	FÊMEA	8ª	SIM	SRD	-
57	03/04/24	MACHO	8ª	SIM	SRD	-
58	03/04/24	MACHO	11ª	SIM	SRD	-
59	05/04/24	MACHO	2M	NÃO	SRD	-
60	05/04/24	FÊMEA	5ª	SIM	SRD	-
61	05/04/24	FÊMEA	-	SIM	SRD	-
62	05/04/24	MACHO	6ª	NÃO	SRD	-
63	08/04/24	MACHO	1ª	SIM	SRD	-
64	08/04/24	MACHO	8ª	SIM	SRD	-
65	10/04/24	FÊMEA	2ª	SIM	SRD	-
66	10/04/24	MACHO	9M	SIM	SRD	-
67	10/04/24	MACHO	8ª	SIM	SRD	SIM
68	10/04/24	MACHO	12ª	NÃO	SRD	-
69	05/07/24	MACHO	2ª	SIM	SRD	-
70	05/07/24	MACHO	10A	SIM	SRD	-
71	05/07/24	FÊMEA	1ª	NÃO	SRD	-
72	05/07/24	FÊMEA	10ª	SIM	SRD	-
73	05/07/24	MACHO	2ª	SIM	SRD	-
74	10/07/24	MACHO	8ª	SIM	SRD	-
75	10/07/24	MACHO	2ª	SIM	SRD	-
76	10/07/24	FÊMEA	15ª	SIM	PERSA	-
77	10/07/24	FÊMEA	16ª	SIM	SRD	-
78	10/07/24	MACHO	10ª	SIM	SRD	-
79	10/07/24	MACHO	4ª	SIM	SRD	-
80	10/07/24	MACHO	11ª	SIM	SRD	-
81	11/07/24	FÊMEA	2ª	SIM	SRD	-
82	25/07/24	MACHO	9ª	SIM	SRD	-
83	25/07/24	MACHO	2ª	SIM	SRD	-
84	26/07/24	MACHO	10ª	SIM	SRD	-
85	26/07/24	FÊMEA	3A	SIM	SRD	-

GATOS AMOSTRADOS NO HOVET UNISA ENTRE NOV/23 A AGO/24						
ID AMOSTRA	DATA COLETA	SEXO	IDADE	CASTRADO	RAÇA	DIARRÉIA
86	26/07/24	MACHO	15A	SIM	SRD	-
87	26/07/24	MACHO	9A	NÃO	SRD	-
88	30/07/24	MACHO	3A	NÃO	SRD	-
89	31/07/24	MACHO	3A	SIM	SRD	-
90	31/07/24	MACHO	1A	NÃO	SRD	-
91	01/08/24	MACHO	1A	SIM	SRD	-
92	01/08/24	MACHO	1A	NÃO	SRD	-
93	02/08/24	FÊMEA	1A	NÃO	SRD	-
94	02/08/24	FÊMEA	9A	SIM	SRD	-
95	02/08/24	MACHO	2A	SIM	SRD	-
96	02/08/24	MACHO	10M	NÃO	SRD	-
97	02/08/24	MACHO	2A	NÃO	SCOTTISH FOLD	-
98	02/08/24	MACHO	8M	NÃO	SRD	-
99	05/08/24	FÊMEA	2A	NÃO	SRD	-
100	05/08/24	MACHO	4A	NÃO	SRD	-
101	05/08/24	FÊMEA	6M	NÃO	SRD	-
102	05/08/24	FÊMEA	1A	SIM	SRD	-

5.2 Detecção de Genes de Resistência aos Antimicrobianos

Foram isoladas 40 cepas de *E. coli* dos 102 gatos amostrados, sendo 70% (28/40) machos e 30% (12/40) fêmeas. Destes animais, 70% (28/40) são castrados, enquanto 30% (12/40) não são castrados. Apenas uma cepa (2,5%;1/40) era relacionada a um gato de raça definida, 97,5% (39/40) são gatos de raça não definida (SRD). Em relação à faixa etária dos felinos estudados, um isolado não há informação sobre a idade, entretanto, os gatos filhotes correspondem a 26,64% (10/39), jovens adultos 23,07% (9/39), adultos maduros 30,76% (12/39) e seniores 20,51% (8/39). Entre os isolados, duas cepas (5,12%; 2/40) são relacionadas a animais com queixa clínica de diarreia durante o período da colheita do *swab retal*, ambos os animais descritos como gatos machos, adultos maduros, castrados e sem raça definida. Em um isolado foi detectado como positivo para os genes *aac(6')-Ib* e *aph(3')-Ia*, o outro isolado foi detectado os genes *tet(A)*, genes *aac(6')-Ib* e *aph(3')-Ia*.

Os testes de detecção dos genes de resistência aos antimicrobianos demonstraram que 97,50% (39/40) das cepas apresentaram pelo menos a presença de um gene estudado. O gene *tet(A)* foi relacionado ao maior percentual de cepas resistentes apresentando 61,53% (24/39), seguido dos genes *aac(6')-Ib* e *aph(3')-Ia*, ambos com 58,97% (23/39) cada. O gene *sul1* foi detectado em (38,46%; 15/39), gene *bla_{CTX-M1}* (28,20%; 11/39), gene

sul2 (28,20%; 11/39), *tet(B)* (25,64%; 10/39), *oqxB* (7,69%; 3/39), *bla*_{CTX-M9} (5,12%; 2/39), *bla*_{CTX-M2} (2,56%; 1/39), *qnrB* (2,56%; 1/39), *qnrS* (2,56%; 1/39), enquanto não houve presença dos genes *oqxA* e *qnrA*. Foi observado que 51,28% (20/39) dos isolados resistentes apresentaram genes de resistência a pelo menos três classes de drogas antimicrobianas (Tabela 3).

Tabela 3. Relação geral das cepas de *E. coli* que apresentaram um ou mais gene de resistência aos antimicrobianos investigados neste estudo.

ID	SEXO	IDADE	CASTRADO	RAÇA	DIARRÉIA	PRESENÇA GENES RESISTÊNCIA
39	MACHO	2A	NÃO	SRD	N	-
63	MACHO	1A	SIM	SRD	N	<i>tetA + sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
64	MACHO	8A	SIM	SRD	N	<i>tetA + sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
57	MACHO	8A	SIM	SRD	N	<i>tetA</i>
62	MACHO	6A	NÃO	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
67	MACHO	8A	SIM	SRD	SIM	<i>aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
52	MACHO	17A	SIM	SRD	N	<i>oqxB + sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
35	FÊMEA	5M	NÃO	SRD	N	<i>bla_{CTX-M9} + tetA + tetB + sul2 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
33	MACHO	9A	SIM	SRD	SIM	<i>tetA + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
55	FÊMEA	6A	SIM	SRD	N	<i>oqxB + tetA + sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
50	MACHO	3A	SIM	SRD	N	<i>tetA + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
66	MACHO	9M	SIM	SRD	N	<i>aac(6')-Ib</i>
59	MACHO	2M	NÃO	SRD	N	<i>bla_{CTX-M2} + tetA + sul1</i>
53	FÊMEA	15A	SIM	SRD	N	<i>sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
36	MACHO	11A	SIM	SRD	N	<i>tetA + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
38	MACHO	10A	SIM	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetA + sul1</i>
58	MACHO	11A	SIM	SRD	N	<i>qnrB + sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
37	MACHO	12A	SIM	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetB + sul1 + sul2 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>

ID	SEXO	IDADE	CASTRADO	RAÇA	DIARRÉIA	PRESENÇA GENES RESISTÊNCIA
60	FÊMEA	5A	SIM	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetB + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
86	MACHO	15A	SIM	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetA + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
97	MACHO	2A	NÃO	SCOTTISH FOLD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetB</i>
85	FÊMEA	3A	SIM	SRD	N	<i>qnrS + tetA + sul1 + sul2 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
40	MACHO	2A	NÃO	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetA + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
96	MACHO	10M	NÃO	SRD	N	<i>tetA + sul2</i>
88	MACHO	3A	NÃO	SRD	N	<i>sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
94	FÊMEA	9A	SIM	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetB + sul2</i>
74	MACHO	8A	SIM	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetA + tetB</i>
77	FÊMEA	16A	SIM	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetA + sul2 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
93	FÊMEA	1A	NÃO	SRD	N	<i>tetA</i>
78	MACHO	10A	SIM	SRD	N	<i>bla_{CTX-M9} + sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
90	MACHO	1A	NÃO	SRD	N	<i>tetB + sul1 + sul2</i>
70	MACHO	10A	SIM	SRD	N	<i>bla_{CTX-M1} + tetA + tetB + sul2</i>
84	MACHO	10A	SIM	SRD	N	<i>tetA + sul2</i>
91	MACHO	1A	SIM	SRD	N	<i>tetB + aac(6')-Ib</i>
92	MACHO	1A	NÃO	SRD	N	<i>tetB + sul1 + aac(6')-Ib + aph(3')-Ia</i>
96	MACHO	10M	NÃO	SRD	N	<i>tetA + sul2 + aph(3')-Ia</i>
56	FÊMEA	8A	SIM	SRD	N	<i>oqxB + tetA</i>
54	FÊMEA	9A	SIM	SRD	N	<i>tetA + aph(3')-Ia</i>
61	FÊMEA	-	SIM	SRD	N	<i>tetA</i>
34	FÊMEA	13A	SIM	SRD	N	<i>tetA + sul2</i>

6 DISCUSSÃO

O prolongamento da expectativa de vida de animais domésticos, como os gatos, faz com que estejam mais expostos a patógenos bacterianos, cuja infecção exige o uso de antibacterianos. Esses medicamentos quando em uso incorreto, induz a seleção de bactérias resistentes, fato considerado como uma das principais ameaças globais do mundo moderno (SALAM *et. al* 2023). Dessa forma, faz-se necessário o constante monitoramento desses animais a fim de se compreender o papel deles como fonte de microrganismos resistentes.

Devido a importância da AMR, faz-se necessária a utilização de ferramentas que possibilitem o rápido monitoramento de genes de resistência em amostras biológicas. Para este objetivo, destacam-se os protocolos de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). A PCR oferece vantagens como alta sensibilidade e especificidade, além de permitir a identificação precisa de genes específicos mesmo em quantidades mínimas de material genético, o que pode ser especialmente útil em amostras complexas. Ainda, a PCR possibilita resultados rápidos e, em muitos casos, de baixo custo, permitindo o rastreamento eficiente de genes de resistência e facilitando o monitoramento de mudanças no conjunto de genes de resistência em diferentes populações e ambientes. Dessa forma, esses benefícios tornam a PCR uma ferramenta valiosa para estudos em saúde pública e na abordagem da Uma só Saúde.

A partir do uso da PCR, foi possível observar a ampla disseminação de genes de resistência aos antimicrobianos em cepas de *Escherichia coli* isoladas dos gatos domésticos avaliados. Inicialmente, destaca-se a alta taxa de detecção de pelo menos um gene de resistência nas amostras (97,50%), evidenciando o potencial dos felinos como reservatórios de bactérias resistentes, com possível impacto na saúde pública e veterinária. Sabendo da importância desses animais no contexto da resistência, Yang et al. (2022) também verificaram a alta frequência de genes de resistência nas fezes (amostra total) dos gatos estudados na China, utilizando, neste caso, a PCR quantitativa. No mesmo país, Chen et al (2023) também avaliaram as fezes de gatos, além de cães, e observaram que estes animais serviam de reservatórios para novos genes de resistência a β -lactâmicos, macrolídeos, aminoglicosídeos e a rifamicina. Já na Itália, Gargano et al. (2022) identificaram genes de resistência em 43% das *E. coli* isoladas de fezes de gatos errantes, frequência inferior ao encontrado no presente estudo.

Especificamente sobre os genes, o presente trabalho mostrou que o gene *tet(A)*, associado à resistência a tetraciclinas, foi o mais frequente. A classe das tetraciclinas é formada pelos seguintes princípios: tetraciclina, oxytetraciclina, minociclina e doxiciclina. São princípios bacteriostáticos que interferem na síntese proteica da bactéria. A doxiciclina é comumente utilizada contra clamidiose e micoplasmoses felina, enquanto medicamentos apresentando a tetraciclina indicam para casos de pneumonia por *Pasteurella* spp., otite por *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus aureus* e infecções por *Escherichia coli*. As tetraciclinas, particularmente a doxiciclina, são geralmente bem absorvidas pela mucosa gastrointestinal e, por este motivo, o antimicrobiano chega até a microbiota local, e pode selecionar os microrganismos a ele resistente, incluindo aqueles carreadores do gene *tet(A)* (ALBARELLOS; LANDONI 2009; RIOND et al. 1990).

Em um trabalho com gatos errantes na Italia, Gargano et al. (2022) avaliaram a presença de genes de resistência em *E. coli* isoladas das fezes destes animais, e identificaram o gene *tet(A)* como o terceiro mais frequente (21%), embora em frequência bem menor que no presente estudo (61,53%). Trabalhando com fezes de gatos doentes e saudáveis de Portugal, Carvalho et al. (2021) isolaram *E. coli* resistentes a cefotaxima (N-13) e identificaram sete delas resistentes a tetraciclina, albergando o gene *tet(A)* (53.6%), indicando alta frequência deste gene, particularmente em animais doentes (5/7). Outro gene que confere resistência às tetraciclinas é o *tet(B)*. Somando-se ao *tet(A)*, estão presentes em 85% dos isolados.

Os aminoglicosídeos, por sua vez, são princípios que também atuam impedindo a produção de proteínas. Nesta classe encontram-se princípios como gentamicina, amicacina, tobramicina e neomicina, sendo geralmente utilizados contra infecções por bactérias Gram-negativas aeróbias e estafilococos (ALBARELLOS; LANDONI 2009). É geralmente prescrita para casos de otite, lesões cutâneas e até infecções do trato urinário. É uma classe de antimicrobianos de prescrição comum na medicina humana, de modo que seu uso em ambas as áreas favorece a seleção de microrganismos resistentes. Por isso, a detecção desses genes (e outros também relacionados a resistência a esta classe) é comum. Van Hoek et al. (2011) mostraram isso ao compilarem dados de cepas apresentando genes de resistência adquiridos, ao compilar isolados carreadores dos genes *aac(6')-Ib* (*Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia* spp.) e *aph(3')-Ia* (*Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp.)

Embora em menor frequência (35%; 14/40), faz-se necessário pontuar a detecção de genes relacionados a produção de beta-lactamases de espectro estendido (grupos *bla*_{CTX}-

M1, *bla*_{CTX-M2} e *bla*_{CTX-M9}). Essas enzimas estão presentes em todos os continentes e tem na família CTX-M, a sua principal representante. Elas são responsáveis pela hidrólise de da maioria dos beta-lactâmicos, exceto os carbapenêmicos e as cefamicinas (CASTANHEIRA *et al.* 2021). No trabalho desenvolvido por Carvalho *et al.* (2021) em Portugal, mais da metade dos isolados *E. coli* apresentava genes pertencentes ao grupo M1 (CTX-M1 e CTX-M15). Já na China, Cui *et al.* (2022) investigaram ESBLs presentes em 79 *E. coli* isoladas de pequenos animais (33 gatos e 55 cães). Os autores destacam que dos genes relacionados a produção de ESBLs, o mais frequente foi o *bla*_{CTX-M} (60.8%), valor maior que o encontrado no presente trabalho. Entretanto, os resultados não foram especificados quanto a espécie animal, de modo que não é possível a comparação entre os resultados em felinos. Ainda, os autores verificaram que 56.2% das estirpes positivas para *bla*_{CTX-M} foram isoladas de cães e gatos saudáveis, assim como no presente estudo. Dessa forma, evidencia-se a participação de pequenos animais saudáveis como fonte de bactérias produtoras dessas enzimas. Já na Tailândia, somente cinco dos 54 isolados de *E. coli* proveniente de fezes de gatos (9,2%) apresentaram o gene *bla*_{CTX-M} (SATTASATHUCHANA *et al.* 2022). Na Itália, seis isolados de *E. coli* apresentaram o gene *bla*_{CTX-M1}, sendo que a fenotipicamente, a ESBL não foi positiva (RATTI *et al.* 2023).

No Brasil, Melo *et al.* (2018) avaliou Enterobacteriaceae produtoras de ESBL em cães e gatos doentes e saudáveis de vários estados. Neste trabalho, a autora identificou dois isolados de *E. coli* com o perfil desejado em gatos saudáveis, sendo um deles proveniente de fezes e apresentando resistência a sete princípios diferentes e ao menos um gene de resistência de importância clínica (*bla*_{CTX-M2}). Sfaciotte (2019) realizou uma pesquisa semelhante, porém com cães e gatos atendidos em um hospital-escola veterinário em Santa Catarina. Das bactérias isoladas de fezes e produtoras de ESBL, a maioria pertencia a espécie *E. coli* (53.4%). Nos gatos sadios, três estirpes desta espécie apresentavam o perfil ESBL-positivo, sendo duas carreadoras dos genes *bla*_{CTX-M1} e *bla*_{CTX-M9}, também identificadas no presente estudo. Embora tenha sido realizado com cães, a pesquisa realizada por Carvalho *et al.* (2016), 42 isolados de *E. coli* resistentes foram avaliadas e destas quatro (9,5%) apresentaram *bla*_{CTX-M}.

Em relação a presença total dos genes, mais de 50% dos isolados deste trabalho carregavam genes de resistência a pelo menos três classes de drogas antimicrobianas, indicando possível multidroga resistência (se característica fenotípica fosse confirmada). Este achado é particularmente relevante no que diz respeito a possibilidade terapêuticas disponíveis em caso de infecção por essas cepas, ou até mesmo, quanto a dinâmica de

disseminação dos genes. A disseminação desses genes em populações animais sugere um risco potencial para a transmissão desses mecanismos de resistência para humanos, por meio do contato direto ou indireto com os animais e seus dejetos.

A disseminação de cepas multirresistentes (particularmente de *E. coli*) é preocupante e estudos indicam que essas bactérias podem estar trocando informações genéticas com outras espécies bacterianas (BENNETT 2008) não apenas no próprio ambiente intestinal do hospedeiro, mas, também, com bactérias residentes em seres humanos, meio ambiente e aquelas presentes em ambientes hospitalares. É importante ressaltar que essa troca genética acontece entre organismos patogênicos e entre patogênicos e oportunistas/comensais, indicando que esta transferência genética, ao menos no intestino, é ubiqüitária (DEHOUX *et al.* 2016).

Além das espécies oportunistas poderem causar uma infecção de difícil tratamento (em condições específicas), elas podem transferir esses genes a espécies patogênicas inicialmente sensíveis aos princípios antimicrobianos. Sobre isto, estudos atuais demonstraram que bactérias ambientais presentes em alimentos de origem vegetal podem atuar como uma plataforma para a transferência horizontal de genes de resistência a antibióticos. Isso foi Liao *et al.* (2020) identificaram que a alface fresca pode conter *Escherichia coli* resistente a beta-lactâmicos, funcionando como um reservatório de genes de resistência que podem ser transferidos para patógenos capazes de causar infecções em humanos. Além disso, um estudo realizado por Maeusli *et al.* (2020) mostrou que a transferência horizontal de genes de resistência a antibióticos pode ocorrer de espécies de *Acinetobacter* para *E. coli* presente na alface. Por muitos terem acesso à rua, gatos podem acessar hortas e produções de subsistência e, ao defecarem, bactérias resistentes como *E. coli*, podem contaminar esses alimentos. Além disso, essas produções podem ser irrigadas com água contaminada com fezes animais (incluindo felinas).

Os achados obtidos no presente trabalho reforçam a importância da monitorização da resistência bacteriana em animais de companhia, considerando que esses genes podem ser transferidos para bactérias patogênicas de interesse humano. O conceito de Uma Só Saúde destaca a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental e, neste contexto, a resistência antimicrobiana é um dos principais desafios globais, demandando estratégias integradas de vigilância e controle. A presença de genes de resistência em *E. coli* isoladas de gatos, em sua maioria saudáveis, enfatiza a necessidade de um uso mais racional de antimicrobianos, bem como medidas de prevenção de disseminação de microrganismos resistentes.

7 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que gatos domésticos podem albergar cepas de *E. coli* resistentes a diferentes princípios ativos, principalmente à tetraciclina, além de genes de importância clínica mundial como as beta-lactamases de espectro estendido. A presença de bactérias com genes de resistência a pelo menos três classes de antimicrobianos nas amostras deste estudo caracteriza uma preocupação para a saúde pública e indica necessidade de adoção de medidas que controlem a disseminação de genes de resistência. Dessa forma, o presente trabalho reforça o papel de gatos saudáveis como fontes de bactérias carreadoras de genes de resistência a antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

- ABUSHAHEEN, M. A.; MUZAHEED; FATANI, A. J.; ALOSAIMI, M.; MANSY, W.; GEORGE, M.; ACHARYA, S.; RATHOD, S.; DIVAKAR, D. D.; JHUGROO, C.; VELLAPPALLY, S.; KHAN, A. A.; SHAIK, J.; JHUGROO, P. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. **Disease-a-Month**, v. 66, 100971, 2020.
- ABREU, A. G.; MARQUES, S. G.; MONTEIRO-NETO, V.; CARVALHO, R. M. L.; GONÇALVES, A. G. Nosocomial infection and characterization of extended-spectrum β -lactamases-producing Enterobacteriaceae in Northeast Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44(4), p. 441-446, 2011.
- AGUIRRE, A. A.; GÓMEZ, A. Essential veterinary education in conservation medicine and ecosystem health: a global perspective. **Revue Scientifique et Technique**, v. 28, p.597-603, 2009.
- ALANIS, A. J. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? **Archives of Medical Research**, v.36, p.697-705, 2005.
- ALBARELLOS GA, LANDONI MF. Current concepts on the use of antimicrobials in cats. **Vet J**. 2009 Jun;180(3):304-16. doi: 10.1016/j.tvjl.2008.01.001.
- AMINOV, R. I.; MACKIE, R. I. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. **FEMS Microbiol Lett**, v.271, p. 147-161, 2007.
- ARAÚJO, B. C.; MELO, R. C.; BORTOLI, M. C.; BONFIM, J. R. A.; TOMA, T. S. T. Prevenção e controle de resistência aos antimicrobianos na Atenção Primária à Saúde: evidências para políticas. **Ciência & Saúde Coletiva**. 27(1): 299-314, 2022.
- BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J. L.; CANTÓN, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. **Current Opinion in Biotechnology**, v.19, p260-265, 2008.
- BENNETT PM. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. **Br J Pharmacol**. 2008 Mar;153 Suppl 1(Suppl 1):S347-57. doi: 10.1038/sj.bjp.0707607.

- BOGAARD, A. E. v.d.; STOBBERINGH, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.14, p.327-335, 2000.
- BRADFORD, P. A. Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. **Clin Microbiol Rev**. 14: 933-951, 2001.
- Brasil. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Guia de Uso Racional de Antimicrobianos para Cães e Gatos / Rabelo, Rodrigo Cardoso. Secretaria de Defesa Agropecuária. — Brasília : **MAPA/AECS**, 2022.
- Brasil. ANVISA; Diretriz Nacional para Elaboração Programa Gerenciamento de Antimicrobianos em Serviços de Saúde; 2023.
- BUSH, K. New β -Lactamases in Gram-Negative Bacteria: Diversity and Impact on the Selection of Antimicrobial Therapy. **Clin Infect Dis**. 32:1085-1089, 2001.
- CARVALHO, A.C., BARBOSAB, A.V., ARAIS, L.R., RIBEIRO, P.F., CARNEIRO, V.C., CERQUEIRA, A.M.F. 2016. Resistance patterns, ESBL genes, and genetic relatedness of *Escherichia coli* from dogs and owners. *Brazilian Journal of Microbiology*. 47:150-158.
- CASTANHEIRA, M., SIMMER P. J., BRADFORD, P. A. Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection, *JAC-Antimicrobial Resistance*, Volume 3, Issue 3, September 2021, dlab092. doi: 10.1093/jacamr/dlab092
- CHEN C., LI Y., WU Z., RUAN Y., LONG T., WANG X., LI W., REN H., LIAO X., LIU Y., LIAN X., SUN J. Cat and dog feces as reservoirs of diverse novel antibiotic resistance genes. *Environ Res*. 2024 Nov 15;261:119690. doi: 10.1016/j.envres.2024.119690.
- CUI, L., ZHAO, X., LI, R., HAN, Y., HAO, G., WANG, G., & SUN, S. (2022). Companion Animals as Potential Reservoirs of Antibiotic Resistant Diarrheagenic *Escherichia coli* in Shandong, China. *Antibiotics*, 11(6), 828. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060828>
- COSTA, D., P. POETA, Y. SÁENZ, L. VINUÉ, A. C. COELHO, M. MATOS, B. ROJO-BEZARES, J. RODRIGUES, C. TORRES. Mechanisms of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates recovered from wild animal. **Microb Drug Resist**. 14:71-77, 2008.
- DAVIES, J. & DAVIES, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 74 (3), p.417-433, 2010.
- DALLENNE, C.; COSTA, A.; DECRÉ, D.; FAVIER, C.; ARLET, G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae. **J Antimicrob Chemother**, v.65, p.490-495, 2010.
- D'COSTA, V. M.; KING, C. E.; KALAN, L.; MORAR, M.; SUNG, W. W. L.; SCHWARZ, C.; FROESE, D.; ZAZULA, G.; CALMELS, F.; DEBRUYNE, R.; GOLDING, G. B.; POINAR, H. N.; WRIGHT. Antibiotic resistance is ancient. **Nature**, v.477, p.457-461, 2011.
- DEHOUX P., MARVAUD J. C., ABOUELLEIL A., EARL A. M., LAMBERT T., DAUGA C. Comparative genomics of *Clostridium bolteae* and *Clostridium clostridioforme* reveals species-specific genomic properties and numerous putative antibiotic resistance determinants. *BMC Genomics*. 2016;17(1): p. 819. doi: 10.1186/s12864-016-3152-x.
- EWERS C, BETHE A, SEMMLER T, GUENTHER S, WIELER LH. 2012. Extended-spectrum β lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and

companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. **Clin Microbiol Infect.** 18(7):646-55. doi: 10.1111/j.1469- 0691.2012.03850

EWERS C, BETHE A, STAMM I, GROBBEL M, KOPP PA, GUERRA B, STUBBE M, DOI Y, ZONG Z, KOLA A, SCHAUFLER K, SEMMLER T, FRUTH A, WIELER LH, GUENTHER S. 2014. CTXM-15-D-ST648 *Escherichia coli* from companion animals and horses: another pandemic clone combining multiresistance and extraintestinal virulence? **J Antimicrob Chemother.** 69:1224-30. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkt516>.

EWERS C, GROBBEL M, STAMM I, KOPP PA, DIEHL I, SEMMLER T, FRUTH A, BEUTLICH J, GUERRA B, WIELER LH, GUENTHER S. 2010. Emergence of human pandemic O25:H4- ST131 CTX-M-15 extended-spectrum- β lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. **J Anti microb Chemother.** 65:651-60. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkq004>

FEVRE, C.; JBEL, M.; PASSET, V.; WEILL, F. X.; GRIMONT, P. A. D.; BRISSE, S. Six Groups of the OXY β -Lactamase Evolved over Millions of Years in *Klebsiella oxytoca*. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 49(8), p.3453-3462, 2005.

FRANCK S, M. B. T. B. W. M. Multiplex PCR for Enterotoxigenic, Attaching and Effacing, and. **Journal of Clinical Microbiology**, v. v. 36, n. n. 6, p. 1795–7, 1998.

GARGANO, V.; GAMBINO, D.; OREFICE, T.; CIRINCIONE, R.; CASTELLI, G.; BRUNO, F.; INTERRANTE, P.; PIZZO, M.; SPADA, E.; PROVERBIO, D.; VICARI, D.; SALGADO-CAXITO, M.; BENAVIDES, J. A.; CASSATA, G. Can Stray Cats Be Reservoirs of Antimicrobial Resistance? *Veterinary Science*. v.9, 631, 2022.

GUENTHER, S., EWERS, C.; WIELER, L. H. Extended-spectrum beta-lactamases producing *E. coli* in wildlife, yet another forme of enviromental pollution? **Frontiers in Microbiology/Antimicrobial, Resistance and Chemoterapy**, v.2, article 246, 2011.

GOERING, R. V.; DOCKRELL, H. L.; ZUCKERMAN, M.; CHIODINI, P. L. *Microbiologia Médica e Imunologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA. 2019. 530p.

JARLIER VINCENT, M.-H. N. G. F. A. P. Extended Broad-Spectrum β -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer β -Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns. **Clinical Infectious Diseases**, v. v. 10, n. n. 4, p. 867- 878, 1988.

JUNG, W. K.; SHIN, S.; PARK, Y. K.; LIM, S. K.; MOON, D. C.; PARK, K. T.; PARK, Y. H. Distribution and antimicrobial resistance profiles of bacterial species in stray cats, hospital-admitted cats, and veterinary staff in South Korea. **BMC Veterinary Research**, 16:109, 2020.

JACOBY GA, STRAHILEVITZ J, HOOPER DC. 2014. Plasmid-mediated quinolone resistance. **Microbiol Spectr.** 2(5):10.1128/microbiolspec.PLAS-0006-2013. doi: 10.1128/microbiolspec.PLAS-0006-2013.

JANG J, HUR HG, SADOWSKY MJ, BYAPPANAHALLI MN, YAN T, ISHII S. 2017. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. **J Appl Microbiol.** 123(3):570-81.

LEE, J. H.; BAE, I. K.; LEE, S. H. New Definitions of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Conferring Worldwide Emerging Antibiotic Resistance. **Medicinal Research Reviews**, v. 32 (1), p.216-232, 2012.

LIAO N., BORGES C. A., RUBIN J., et al. Prevalence of β -lactam drug-resistance genes in *Escherichia coli* contaminating ready-to-eat lettuce. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2020;17(12):739–742. doi: 10.1089/fpd.2020.2792.

LLOYD, D. H. Reservoir of Antimicrobial Resistance in Pet Animals. **Clinical Infectious Diseases**. 45:S148-52, 2007.

MAEUSLI M., LEE B., MILLER S., et al. Horizontal gene transfer of antibiotic resistance from *Acinetobacter baylyi* to *Escherichia coli* on lettuce and subsequent antibiotic resistance transmission to the gut microbiome. *mSphere*. 2020;5(3) doi: 10.1128/msphere.00329-20.e00329-20

MAYAERT, H.; GRAEF, E. M.; HAESEBROUCK, F.; DECOSTERE, A. Acquired antimicrobial resistance in the intestinal microbiota of diverse cat population. **Research in Veterinary Science**. v.81, n. 1, p.1-7, 2006.

Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. 1998. Quinolone resistance from a transferable plasmid. **Lancet**. 351(9105):797-9. doi: 10.1016/S0140- 6736(97)07322-4.

MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. **Microbiol Spectrum**. 6(2):ARBA-0009-2017, 2018.

MELO LC, ORESKO C, LEIGUE L, NETTO HM, MELVILLE PA, BENITES NR, SARAS E, HAENNI M, LINCOPAN N, MADEC JY. Prevalence and molecular features of ESBL/pAmpC-producing Enterobacteriaceae in healthy and diseased companion animals in Brazil. *Vet Microbiol*. 2018 Jul;221:59-66. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.05.017. Epub 2018 May 30. PMID: 29981709.

MIDDLETON, J. H.; AMBROSE, A. Enumeration and antibiotic resistance patterns of fecal indicator organisms isolated from migratory Canada geese (*Branta canadensis*). **Journal of Wildlife Diseases**, v.41, p.334-341, 2005.

MOULIN-SCHOULEUR, M.; RÉPÉRANT, M.; LAURENT, S.; BRÉE, A.; MIGNON-GRASTEAU, S.; GERMON, P.; RASSCHAERT, D.; SCHOULER, C. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence pattern. **J Clin Microbiol**, v.45, n.10, p.3366-76, 2007.

MURRAY, C. J.; IKUTA, K. S.; SHARARA, F.; SWETSCHINSKI, L.; ROBLES AGUILAR, G.; GRAY, A.; HAN, C.; BISIGNANO, C.; RAO, P.; WOOL, E.; et al. Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis. **Lancet**. v.399: p.629-55, 2022.

O'NEILL, J. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. London: Review on Antimicrobial Resistance. 2014.

PATERSON, D. L, BONOMO, R. A. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. **Clin Microbiol Rev**. 18(4):657-86. doi: 10.1128/CMR.18.4.657-686.2005.

PERRON, G. G.; QUESSY, S.; BELL, G. A Reservoir of drug-resistant pathogenic bacteria in asymptomatic hosts. **PLoS ONE**, v.3, p. e3749, 2008.

PITOUT, J. D. D.; HOSSAIN, A.; HANSON, N. D. Phenotypic and Molecular Detection of CTX-M-Beta-Lactamases Produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 5715-5721, 2004.

POIREL L, LEVIANDIER C, NORDMANN P. Prevalence and genetic analysis of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA and QnrS in Enterobacteriaceae isolates from a French university hospital. **Antimicrob Agents Chemother.** 50(12):3992-7.

POIREL L, MADEC JY, LUPO A, SCHINK AK, KIEFFER N, NORDMANN P, SCHWARZ S. 2018. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. **Microbiol Spectr.** 6(4). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017.

QUIMBY, J. et al. 2021 AAHA/AAFP Feline Life Stage Guidelines. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 23, n. 3, p. 211–233, 2021.

RAGHUNATH, D. Emerging antibiotic resistance in bacteria with special reference to India. **Journal of Biosciences.** v. 33, p. 593-603, 2008.

RATTI, G., FACCHIN, A., STRANIERI, A., GIORDANO, A., PALTRINIERI, S., SCARPA, P., MARAGNO, D., GAZZONIS, A., PENATI, M., LUZZAGO, C., DALL'ARA, P., LAUZI, S. (2023). Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -Lactamase-/AmpC-Producing *Escherichia coli* in Pet and Stray Cats. **Antibiotics**, 12(8), 1249. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12081249>

RIOND, J.L., VADEN, S.L., RIVIERE, J.E., 1990. Comparative pharmacokinetics of doxycycline in cats and dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics** 13, 415–424

Russo, T. A., J. R. Johnson. Proposal for a New Inclusive Designation for Extraintestinal Pathogenic Isolates of *Escherichia coli*: EPEC. **J Infect Dis.** 181: 1753-174, 2000.

ROSSI, F. The Challenges of Antimicrobial Resistance in Brazil. **CID**, v.52 (9), p.1138-1143, 2011.

SALAM MA, AL-AMIN MY, SALAM MT, PAWAR JS, AKHTER N, RABAAN AA, ALQUMBER MAA. Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. **Healthcare (Basel)**. 2023 Jul 5;11(13):1946. doi: 10.3390/healthcare11131946

SATTASATHUCHANA, P., SRIKULLABUTR, S., KERDSIN, A. ET AL. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in cats and their drinking water: drug resistance profiles and antimicrobial-resistant genes. **BMC Vet Res** 20, 573 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12917-024-04435-8>

SFACIOTTE, R. A. P. Caracterização de micro-organismos multirresistentes isolados do ambiente e colonizando humanos, cães e gatos em um hospital veterinário de ensino. Tese de doutorado. Universidade do Estado de Santa Catarina. 2019. 142 p.

TAN R., JIN M., SHAO Y., et al. High-sugar, high-fat, and high-protein diets promote antibiotic resistance gene spreading in the mouse intestinal microbiota. **Gut Microbes** . 2022;14(1) doi: 10.1080/19490976.2021.2022442.2022442

TOKUDA, K. et al. Characterization of typical and atypical enteroaggregative *Escherichia coli* in Kagoshima, Japan: biofilm formation and acid resistance. **Microbiol Immunol**, v. 54, p. 320–329, 2010.

TOTH, M.; SMITH, C.; FRASE, H.; MOBASHERY, S.; VAKULENKO, S. An Antibiotic-Resistance Enzyme from a Deep-Sea Bacterium. **J Am Chem Soc**, v.132(2), p.816-823, 2010.

- TROTT, D. B-lactam Resistance in Gram-negative Pathogens Isolated from Animals. **Current Pharmaceutical Design**, v.19, n.2, p. 239-249, 2013.
- SALGADO-CAXITO, M.; BENAVIDES, J. A.; ADELL, A. D.; PAES, A. C.; MORENO-SWITT, A. I. Global Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase producing-*Escherichia coli* in dogs and cats – A scoping review and meta-analysis. **One Health**, v.12, 100236, 2021.
- SILVA, K. C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **J Bras Patol Med Lab**. 48: 91-99, 2012
- SILVA, R. A.; OLIVEIRA, B. N. L.; SILVA, L. P. A.; OLIVEIRA, M. A.; CHAVES, G. C. Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da saúde global. **Saúde Debate**. Rio de Janeiro, v. 44, n. 126, p. 607-623, Jul-Set 2020.
- SAYAH, R. S., J. B. KANEENE, Y. JOHNSON, R. A. MILLER. Patterns of Antimicrobial Resistance Observed in *Escherichia coli* Isolates Obtained from Domestic- and Wild-Animal Fecal Samples, Human Septage, and Surface Water. **Appl Environ Microbiol**. 71: 1394-1404, 2005.
- SOUZA, A. S.; TORRES, J. B.; OLIVEIRA, R. C. Identificação laboratorial de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) em espécimes clínicos de origem hospitalar. **RBAC**, v. 42(4), p.303-306, 2010.
- VAN HOEK AH, MEVIUS D, GUERRA B, MULLANY P, ROBERTS AP, AARTS HJ. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Front Microbiol*. 2011 Sep 28;2:203. doi: 10.3389/fmicb.2011.00203.
- YANG Y, HU X, LI W, LI L, LIAO X, XING S. Abundance, diversity and diffusion of antibiotic resistance genes in cat feces and dog feces. *Environ Pollut*. 2022 Jan 1;292(Pt A):118364. doi: 10.1016/j.envpol.2021.118364.