

**UNIVERSIDADE SANTO AMARO – UNISA**

Lívia Camargo de Carvalho

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA EM BACTÉRIAS DO TRATO  
RESPIRATÓRIO DE CÃES**

São Paulo – SP

2025

Lívia Camargo de Carvalho

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA EM BACTÉRIAS DO TRATO  
RESPIRATÓRIO DE CÃES**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação *Stricto Sensu* em Saúde Única da Universidade Santo Amaro para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Garabet Agopian

São Paulo – SP

2025

Lívia Camargo de Carvalho

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA EM BACTÉRIAS DO TRATO  
RESPIRATÓRIO DE CÃES**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação *Stricto Sensu* em Saúde Única da Universidade Santo Amaro para obtenção do título de Mestre.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Rafael Garabet Agopian

---

Prof. Dr. Bruno Alonso Miotto

---

Prof. Dr. Carolina de Oliveira Ghirelli

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2025.

Ficha catalográfica biblioteca

C325a Carvalho, Lívia Camargo de.  
Avaliação do perfil de resistência em bactérias do trato respiratório de cães / Lívia Camargo de Carvalho. – São Paulo, 2025.  
38 p.: il., P&B.

Dissertação (Mestrado em Saúde Única) - Universidade Santo Amaro, 2025.  
Orientador: Prof. Dr. Rafael Garabet Agopian.  
Bibliografia incluída.

1. ESKAPE. 2. Resistência bacteriana. 3. Saúde Única. I. Agopian, Rafael Garabet, orient. II. Universidade Santo Amaro. III. Título.

CDD 610

## **Agradecimentos**

Primeiramente a Deus e Nossa Senhora por me fortalecerem sempre.

Agradeço aos meus avós maternos José dos Santos Camargo e Cecilia de Lara Ribeiro e aos meus avós paternos Roberto Rocha de Carvalho e Luisa Giosa Carvalho que em meio a sua simplicidade sempre foram grandes incentivadores para busca de conhecimento.

Aos meu pais Roberto Giosa de Carvalho e Doraci Raimunda Camargo de Carvalho que sempre se sacrificarão para me proporcionar o melhor, além de sempre me incentivarem a buscar meus sonhos.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Rafael Garabet Agopian por aceitar esse grande desafio e me direcionar pelo mundo acadêmico, além de compreender minhas limitações e sempre me apoiar.

Agradeço ao Prof. Dr. Bruno Alonso Miotto por ter me acolhido em seu estudo, por toda paciência, orientação e pelas incríveis aulas.

A Prof. Dr. Carolina de Oliveira Ghirelli por todas as oportunidades que me concedeu em minha vida profissional, por todo direcionamento, apoio e por ser uma grande inspiração.

A Prof. Dr. Adriana Cortez por todo suporte como coordenadora do programa de mestrado e por toda ajuda com o projeto.

A Prof. Dr. Natália Carrillo Gaeta por todo suporte e ajuda com meu projeto e por todas as aulas.

A Prof. Msc. Stephanie Bergmann Esteves por ser uma amiga maravilhosa e um exemplo de profissional dentro do mundo acadêmico, além de sua imensa ajuda durante o meu projeto.

Agradeço a Prof. Msc. Nathalie Nagase Loureiro por todo apoio e conselhos durante esse processo.

A M.V. Josyanne Christine Oshika pelos conhecimentos cedidos e todo suporte.

A M.V. Giovanna Freire de Sá pelo apoio e por tornar as coletas no Hospital Veterinário Dr. Hato possíveis.

Agradeço ao M.V. André Cascadan por todos os conselhos e suporte.

A minha trainee e amiga Ana Carolina da Silva pelas ajudas durante a coleta, por todos os conselhos e toda dedicação em sua função. Gostaria de homenagear sua mãe Marizete Ferreira da Silva, por ser um exemplo de força e de fé.

Aos meus grandes amigos Luany Adriane de Oliveira e Gregory Bergmann Lupifieris por todos os conselhos e incentivos, não só nessa fase, mas em todas as outras.

Ao meu namorado Luis Felipe Teixeira de Freitas por compreender meus momentos de ausência por todo incentivo.

Ao contratado do setor de imagem do Hovet Unisa, M.V. Vitor Dellamano Laranjeira por todo suporte e ensinamentos.

Aos técnicos de radiologia do Hovet Unisa Madalena Carvalho, Rafael Silva Pereira e Ludimila Cruz, por todos os conhecimentos transmitidos.

A todos os professores que já tive e que dedicaram sua vida a transmitir seu conhecimento e acreditavam em um futuro melhor e a todos os médicos veterinários com quem pude aprender durante todos esses anos.

## Resumo

A resistência antimicrobiana (RAM) representa um desafio global para a saúde pública e animal. Este estudo teve como objetivo caracterizar o perfil de resistência antimicrobiana de bactérias do grupo ESKAPE isoladas do trato respiratório de cães sintomáticos e assintomáticos atendidos em clínicas veterinárias no estado de São Paulo, destacando seu papel no contexto da Saúde Única. Foram coletadas amostras nasofaríngeas, orofaríngeas e oculares de 50 cães, das quais 28% apresentaram crescimento bacteriano. Entre os 18 isolados bacterianos identificados, 61,1% pertenciam ao grupo ESKAPE. Testes de suscetibilidade antimicrobiana revelaram que 54,5% dos isolados do grupo ESKAPE demonstraram resistência a pelo menos um antimicrobiano, com *Serratia marcescens* apresentando resistência a 10 antimicrobianos. Amoxicilina com ácido clavulânico foi o antimicrobiano com maior número de isolados resistentes. A análise molecular identificou genes de resistência em todos os isolados do grupo ESKAPE, com destaque para *sul1*, *sul2*, *aac(6')-Ib* e *aph(3')-Ia*, indicando resistência a sulfonamidas e aminoglicosídeos. A ausência de genes CTX-M relacionados à ESBL foi observada, enquanto *oqxB* foi o único gene associado à resistência a quinolonas identificado. Estes achados reforçam a importância do monitoramento da RAM em cães e sua integração na abordagem de Saúde Única, devido ao potencial impacto na saúde pública e animal.

Palavras-chave: ESKAPE, resistência bacteriana; Saúde única.

## Abstract

Antimicrobial resistance (AMR) poses a global challenge to public and animal health. This study aimed to characterize the antimicrobial resistance profile of ESKAPE bacteria isolated from the respiratory tract of symptomatic and asymptomatic dogs treated at veterinary clinics and shelters in São Paulo State, emphasizing their role in the One Health context. Nasopharyngeal, oropharyngeal, and ocular samples were collected from 50 dogs, 28% of which exhibited bacterial growth. Among the 18 identified bacterial isolates, 61.1% belonged to the ESKAPE group. Antimicrobial susceptibility testing revealed that 54.5% of the ESKAPE isolates were resistant to at least one antimicrobial, with *Serratia marcescens* showing resistance to 10 antimicrobials. Amoxicillin with clavulanic acid was the antimicrobial with the highest number of resistant isolates. Molecular analysis detected resistance genes in all ESKAPE isolates, with *sul1*, *sul2*, *aac(6')-Ib*, and *aph(3')-Ia* being the most prevalent, indicating resistance to sulfonamides and aminoglycosides. CTX-M genes related to extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) were absent, while *oqxB* was the only quinolone resistance gene identified. These findings highlight the importance of AMR surveillance in dogs and its integration into the One Health approach, given the potential implications for public and animal health.

Keywords: ESKAPE, bacterial resistance; one health.

## Lista de quadros

Quadro 1. Genes de resistência investigados com os primers (forward e reverse), temperatura de anelamento em graus Celsius (°C), tamanho do amplicon em pares de bases (pb) e referência bibliográfica. ....	18
Quadro 2. Dados dos cães incluídos no estudo.....	19
Quadro 3. Lista de isolados bacterianos com identificação MALDI-TOF....	21
Quadro 4. Resultados do teste de disco-difusão das bactérias isoladas pertencentes ao grupo ESKAPE.....	22
Quadro 5. Resultados do teste de disco-difusão das bactérias isoladas não pertencentes ao grupo ESPAPE.....	22
Quadro 6. Genes de resistência presentes nos isolados bacterianos identificados.....	23

## Lista de abreviações e siglas

AMC	Amoxicilina com ácido clavulânico
ATM	Aztreonam
CAZ	Ceftazidima
CFO	Cefoxitina
CIP	Ciprofloxacina
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CLO	Cloranfenicol
CPM	Cefepime
CRO	Ceftroxona
CTX	Cefotaxima
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPI	Eritromicina
ERT	Ertapenem
ESBL	Extended Spectrum Beta-Lactamase
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa e Enterobacter spp.</i>
GEN	Gentamicina
GLASS	Sistema Global de Vigilância de Resistência e Uso de Antimicrobianos
Hovet	Hospital Veterinário
IPM	Imipenem
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight
MPM	Meropenem
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NAL	Ácido nalidixico
NIT	Nitrofurantoína
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PEN	Penicilina
RAM	Resistência antimicrobiana
SUT	Sulfametoxazol trimetoprim
TET	Tetraciclina
Unisa	Universidade Santo Amaro
VAN	Vancomicina

## Sumário

1. Introdução.....	9
2. Objetivos.....	15
2.1. Objetivos específicos.....	15
3. Materiais e Métodos .....	16
3.1. Delineamento do estudo.....	16
3.2. Coleta de amostras.....	16
3.3. Isolamento e identificação bacteriana.....	17
3.4. Testes de suscetibilidade antimicrobiana.....	17
3.5. Detecção de genes de resistência .....	17
4. Resultados.....	19
4.1. Universo amostral.....	19
4.2. Isolamento e identificação bacteriana.....	20
4.3. Suscetibilidade antimicrobiana.....	21
4.4. Genes de resistência .....	23
5. Discussão .....	25
6. Conclusão.....	28
Referências.....	29
Apêndice 1 .....	34
Apêndice 2.....	35

## 1. Introdução

A resistência antimicrobiana (RAM) é considerada uma das maiores ameaças à saúde pública global, afetando seres humanos, animais e os ecossistemas que interagem com eles, especialmente em um contexto de Saúde Única (One Health) (WHO, 2022; Velazquez-Meza, 2022). Em 2012, em um relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), onde tratava da crescente ameaça da RAM, a coordenadora, Dra. Marie-Paule Kienry (2012), destacou que organismos inicialmente suscetíveis aos antibióticos passaram a desenvolver estratégias de resistência, reduzindo progressivamente a eficácia de novos fármacos.

Segundo o relatório, esse fenômeno ocorreu por consequência inevitáveis à adaptação microbiana em resposta ao uso disseminado de antibióticos, tanto em contextos clínicos quanto em ambientes não hospitalares (OMS, 2012). Adiante, o relatório de 2022, do Sistema Global de Vigilância de Resistência e Uso de Antimicrobianos (GLASS), revelou dados alarmantes quanto à patógenos bacterianos prevalentes, estimando que, em 2019, infecções bacterianas resistentes a medicamentos foram responsáveis por 1,27 milhão de mortes diretas em todo o mundo e contribuíram para um total de 4,95 milhões de óbitos (OMS, 2022).

Além do mais, um relatório desenvolvido por Jonas et al. (2017) ao Banco Mundial destaca que os custos econômicos da resistência antimicrobiana são alarmantes e envolve tanto os sistemas de saúde quanto a produtividade econômica global. As projeções do relatório indicam que a RAM poderá gerar um aumento de até US\$ 1 trilhão em custos de saúde até 2050, além de perdas anuais no produto interno bruto global que podem variar entre US\$ 1 trilhão e US\$ 3,4 trilhões até 2030.

Importante mencionar que a RAM pode ser intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é uma característica inerente a uma espécie bacteriana, associada a genes cromossômicos. Por outro lado, a resistência adquirida ocorre devido a mutações cromossômicas ou pela transferência horizontal de genes, a qual pode ocorrer por três mecanismos principais: transdução mediada por

bacteriófagos, transformação pela incorporação de cromatina de cromossomos, plasmídeos e DNA de organismos mortos, ou conjugação por meio de plasmídeos e transposons conjugativos (Aleksun; Levy, 2007; Verraes et al., 2013)

Um dos grupos mais preocupantes de bactérias resistentes é o grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.), responsável por grande parte das infecções adquiridas em hospitais (Silva et al., 2017). Essas bactérias possuem perfis de resistência que as tornam capazes de escapar da ação de diversos antimicrobianos.

Em 2017, a OMS publicou uma lista de patógenos prioritários, destacando o grupo ESKAPE, dada sua relevância clínica e o impacto global de suas resistências (WHO, 2017). Como exemplo entre os patógenos desse grupo, tem-se *Enterococcus faecium*, resistente à vancomicina.

Nos Estados Unidos, a disseminação ocorreu em duas ondas distintas, sendo a primeira nos anos 1980, impulsionada pela introdução de cefalosporinas de terceira geração, e a segunda, dominada por linhagens resistentes à vancomicina (Kourtis et al., 2019). Na Austrália, quase metade das amostras de *E. faecium* isoladas de hemoculturas são resistentes à vancomicina, destacando a gravidade do problema (Coombs, 2014; AURA, 2019).

Além disso, patógenos como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) também apresentam relevância global. Apesar de avanços no controle de infecções, a carga de infecções por MRSA ainda é alta em algumas regiões, especialmente na Ásia. Outros patógenos, como *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos, apresentam taxas de mortalidade superiores a 40% em infecções grave (De Oliveira, 2020).

O estudo de Silva et al. (2017), que avaliou o perfil de susceptibilidade dos patógenos do grupo ESKAPE, com base nos pontos de corte definidos pelo Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) de 2015, analisou 2.527 amostras, das quais 577 apresentaram resultado positivo para os patógenos do grupo ESKAPE.

A análise das amostras revelou que o *Klebsiella pneumoniae* foi o microorganismo mais prevalente (41%), seguido por *Staphylococcus aureus* (22%),

*Pseudomonas aeruginosa* (14%), *Enterobacter* spp. (11%), *Acinetobacter baumannii* (8%) e *Enterococcus faecium* (4%). As amostras foram obtidas principalmente de urina, swab retal, swab nasal e sangue (Silva et al., 2017).

Em termos de resistência antimicrobiana, foi identificada alta frequência de resistência entre os patógenos analisados, com destaque para as cepas resistentes a carbapenêmicos e antimicrobianos de última linha, como linezolida e daptomicina. A análise molecular identificou genes de resistência específicos, como o blaKPC, blaNDM, blaIMP, blaVIM e blaOXA-23, que são prevalentes em enterobactérias e *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenêmicos (Silva et al., 2017).

Especificamente, destaca-se a ocorrência do grupo de bactérias ESKAPE em cães, trazendo riscos zoonóticos associados às terapias assistidas por animais e às atividades assistidas por animais em contextos de saúde, como mencionam Yu et al. (2024) e Santaniello et al. (2020). Isso se deve ao fato da interação próxima entre cães e indivíduos vulneráveis, como imunocomprometidos, levantando preocupações quanto ao potencial de transmissão de agentes zoonóticos.

Nesse contexto, Santaniello et al. (2020) concluíram que os cães podem atuar como portadores assintomáticos de bactérias ESKAPE, potencialmente facilitando a transmissão zoonótica. Por exemplo, *E. faecium*, um comensal do trato gastrointestinal, pode adquirir resistência à vancomicina e ampicilina, apresentando risco quando transmitido por contato direto com cães. Da mesma forma, *S. aureus*, especialmente as cepas MRSA, são frequentemente isolados de cães e humanos, demonstrando a necessidade de vigilância em contextos onde é necessário o contato físico próximo.

A bactéria *K. pneumoniae*, frequentemente associada a infecções respiratórias e urinárias, foi detectada em linhagens clonais compartilhadas entre cães e seus donos. *A. baumannii* e *P. aeruginosa* destacam-se por sua função em infecções nosocomiais graves, sendo também encontrados em cães, enquanto *Enterobacter* spp., frequentemente associadas a infecções oportunistas, completam o espectro de agentes que demandam atenção (Yu et al., 2024).

A resistência à terceira geração de cefalosporinas em *Escherichia coli* é um exemplo alarmante, com uma média global de 42% em 76 países. Outro destaque é o MRSA, que atinge taxas de 35%, configurando-se como um dos maiores

desafios para a saúde pública global. O MRSA está associado a uma ampla gama de infecções, desde doenças de pele e tecidos moles até bacteremias e pneumonia grave. Sua resistência à meticilina compromete a eficácia de antibióticos beta-lactâmicos, reduzindo as opções terapêuticas disponíveis, que, além de serem mais tóxicas, tornam-se muitas vezes menos acessíveis (OMS, 2022).

Essa capacidade das bactérias de superar os mecanismos de ação das substâncias antimicrobianas pode comprometer a eficácia de tratamentos convencionais, como concluído por Liu et al (2015), quando descobriram um mecanismo de resistência mediado por plasmídeos ao antibiótico colistina, denominado *mcr-1*, em amostras provenientes de animais e seres humanos na China. A análise revelou que o gene *mcr-1* estava presente em amostras isoladas de animais, alimentos derivados de animais e em amostras clínicas humanas. A localização do gene em plasmídeos foi uma descoberta crítica, pois esses elementos genéticos permitem a transferência horizontal entre diferentes espécies bacterianas, representando uma ameaça global à saúde pública.

Ademais, variantes como *mcr-4* e *mcr-5* têm sido relatadas em *Salmonella enterica* e outras espécies, destacando a rápida evolução dos mecanismos de resistência à colistina (Borowiak et al., 2017; Carattoli et al., 2017). Esses genes são considerados ameaça, pois comprometem o uso de antimicrobianos de última linha no tratamento de infecções multirresistentes.

Paralelamente, genes como *qnr* e *aac(6')-Ib-cr* também comprometem na resistência, respectivamente, a quinolonas e aminoglicosídeos, com sua disseminação detectada em amostras de humanos, animais e ambientes (Chen et al., 2012; Cattoir et al., 2007; Vanegas et al. (2021).

Jia et al. (2018), em outro estudo acerca da presença de genes de resistência a antibióticos, abordou o fenômeno no Rio Ba, em Xi'an, China, entre março e julho de 2017, investigando a ocorrência e distribuição de 14 antibióticos pertencentes a sete categorias, bem como 23 genes correspondentes. Entre os genes, os mais predominantes em termos de abundância absoluta foram *sul1*, *tetA*, *tetC*, *tetZ*, *gyrA*, *ermF*, *cmlA* e *blaTEM*. Contudo, a abundância relativa desses genes mostrou-se estável ao longo dos meses, com exceção de *sul3*.

Diante disso, a vigilância contínua e o rastreamento de perfis de resistência são essenciais para orientar decisões terapêuticas e desenvolver estratégias eficazes de controle de infecções. Além disso, são necessários esforços para o desenvolvimento de novos antimicrobianos e a implementação de medidas para minimizar a disseminação de bactérias resistentes, especialmente aquelas pertencentes ao grupo ESKAPE. Nesse cenário, os cães, como animais de estimação próximos aos humanos, podem atuar como vetores e reservatórios de bactérias resistentes.

Assim, surge o presente estudo, a partir do problema de pesquisa que considerando a troca de bactérias e genes de resistência entre cães e humanos, evidenciando o impacto da saúde única no contexto da resistência antimicrobiana. Richard Dawkins (2007), em "O gene egoísta", descreve os genes como as unidades fundamentais da seleção natural, determinando os traços que maximizam a sobrevivência e propagação.

Na resistência antimicrobiana, os genes que conferem resistência em bactérias, como os que codificam beta-lactamases ou modificações de alvos, aumentam a sobrevivência bacteriana em ambientes com uso indiscriminado de antimicrobianos. Esses genes se perpetuam nas populações bacterianas, muitas vezes através de transferência horizontal de genes, criando um "efeito competitivo" que prioriza as bactérias resistentes em detrimento das suscetíveis.

Portanto, como objetivo geral considerou-se: caracterizar o perfil de resistência antimicrobiana de bactérias ESKAPE isoladas do trato respiratório de cães, abordando as interações entre essas bactérias e o ambiente de saúde única, considerando a propagação de genes de resistência entre cães e humanos. De forma específica, considerou-se: identificar os genes de resistência presentes nas bactérias ESKAPE isoladas de cães; discutir a troca de bactérias e genes de resistência no contexto da saúde única, com foco no impacto na saúde pública e animal.

A aplicação de metodologias moleculares, como o PCR multiplex, tem sido fundamental para a identificação de genes de resistência, especialmente em estudos que buscam correlacionar fatores ambientais e clínicos com a disseminação desses elementos genéticos (Dallenne et al., 2010; Ellington et al.,

2007). Essas ferramentas permitem a detecção simultânea de múltiplos genes, facilitando a compreensão da epidemiologia da resistência antimicrobiana e contribuindo para estratégias de mitigação (Cattoir et al., 2007).

Dada a complexidade e a urgência do problema, o presente estudo visa aprofundar o conhecimento sobre a presença e a disseminação de genes de resistência antimicrobiana, explorando seus impactos na saúde pública, na saúde animal e nos ecossistemas naturais. Com base nas evidências existentes, este estudo se concentra na análise molecular de genes relacionados à resistência de antimicrobianos, buscando contribuir para estratégias de contenção e manejo da resistência antimicrobiana.

A justificativa se baseia na necessidade de estudos que investiguem a ocorrência, os mecanismos de resistência e as implicações para a saúde única, promovendo o uso racional de antimicrobianos. Assim, surgiu a importância em compreender melhor os determinantes da resistência antimicrobiana e suas repercussões na saúde humana e animal, bem como pela urgência em propor soluções para um problema em larga escala.

## 2. Objetivos

Caracterizar o perfil de resistência antimicrobiana de bactérias do grupo ESKAPE isoladas do trato respiratório de cães, sintomáticos e assintomáticos, atendidos em clínicas veterinárias no estado de São Paulo, destacando sua relevância no contexto da Saúde Única.

### 2.1. *Objetivos específicos*

1. Isolar e identificar bactérias do grupo ESKAPE a partir de amostras nasofaríngeas, orofaríngeas ou oculares de cães, utilizando meios seletivos e diferenciais, bem como métodos fenotípicos e moleculares.
2. Determinar o perfil de suscetibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas, empregando técnicas padronizadas de disco-difusão (Kirby-Bauer) e microdiluição em caldo, seguindo os critérios do CLSI.
3. Identificar genes de resistência antimicrobiana, como *mecA*, *vanA* e *blaKPC*, presentes nos isolados bacterianos por meio de PCR específica.
4. Analisar os achados no contexto da Saúde Única, discutindo a circulação de bactérias e genes de resistência entre cães, o ambiente e potenciais impactos na saúde humana e animal.

### **3. Materiais e Métodos**

#### *3.1. Delineamento do estudo*

Este estudo transversal foi conduzido com o objetivo de coletar amostras de cães, assintomáticos e sintomáticos, com suspeita clínica de doenças respiratórias. Os animais foram provenientes do Hospital Veterinário da Universidade Santo Amaro (Hovet-Unisa) no município de São Paulo ou do Hospital Veterinário Dr. Hato no município de Santo André, ambos no estado de São Paulo durante março e setembro de 2024. Foram selecionados paciente que procuravam atendimento veterinário com sintomas respiratório e pacientes assintomáticos presentes no hospital veterinário para a campanha de castração. Os critérios de exclusão foram baseados no histórico de condições subjacentes, sendo condições de doenças crônicas cardíacas, neoplasia no aparelho cardiorrespiratório, derrame pleural, anormalidades funcionais ou anatômicas do trato respiratório e uso de antibióticos nos 30 dias anteriores à coleta da amostra.

O estudo detém o CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) através de um adendo ao projeto "Ocorrência de patógenos do Complexo Infecioso Respiratório Canino em cães atendidos no Hovet-UNISA", com o número de Protocolo de Aprovação do Registro da Pesquisa: 2020/2023, como documentado no apêndice 1.

#### *3.2. Coleta de amostras*

As amostras biológicas foram obtidas por meio de swabs nasofaríngeos, orofaríngeos ou oculares coletados dos cães participantes no Hospital Veterinário da UNISA (Hovet-Unisa) ou no Hospital Veterinário Dr. Hato. Antes da coleta, os responsáveis pelos animais foram apresentados e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme apresentado no Apêndice 2.

### 3.3. *Isolamento e identificação bacteriana*

As amostras coletadas dos cães incluídos no presente estudo foram cultivadas em meios de cultura seletivos e diferenciais, como ágar sangue para isolamento de microrganismos e foram plaqueadas em Ágar sangue de carneiro (5%) e as placas incubadas à 37° C por 24 horas, em aerobiose. A identificação bacteriana das colônias cultivadas foi realizada utilizando métodos fenotípicos, como o sistema MALDI-TOF (CHERKAOUI et al. 2010, ANGELETTI 2016).

### 3.4. *Testes de suscetibilidade antimicrobiana*

A suscetibilidade antimicrobiana dos isolados das bactérias pertencentes ao grupo ESKAPE foi avaliada por meio dos métodos de disco-difusão (Kirby-Bauer) ou microdiluição em caldo, seguindo os critérios estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2023). Os resultados foram interpretados e categorizados como sensível, intermediário ou resistente, de acordo com os pontos de corte fornecidos pelo CLSI.

### 3.5. *Detecção de genes de resistência*

O DNA bacteriano das bactérias pertencentes ao grupo ESKAPE foi extraído seguindo o protocolo descrito na bula fornecida pelo fabricante e então foi conduzida a detecção de genes de resistência antimicrobiana por PCR. Foram investigados 14 genes relacionados à resistência bacteriana, incluindo blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-M-Gp9, oqxA, oqxB, qnrA, qnrB, qnrS, tet(A), tet(B),

sul1, sul2, aac(6')-Ib e aph(3')-Ia, com seus respectivos primers e referências bibliográficas listados no quadro 1.

Quadro 1. Genes de resistência investigados com os primers (forward e reverse), temperatura de anelamento em graus Celsius (°C), tamanho do amplicon em pares de bases (pb) e referência bibliográfica.

Gene	Forward primer	Reverse primer	Temperatura de anelamento (°C)	Tamanho do amplicon (pb)	Referência
<i>bla</i> <sub>CTX-M-Gp1</sub>	TTAGGAARTGTGCCGCTG YA	CGATATCGTTGGTGGTRC CAT	60	688	Dallenne et al., 2010
<i>bla</i> <sub>CTX-M-Gp2</sub>	CGTTAACGGCACGATGAC	CGATATCGTTGGTGGTRC CAT	60	404	Dallenne et al., 2010
<i>bla</i> <sub>CTX-M-Gp9</sub>	TCAAGCCTGCCGATCTGG T	TGATTCTCGCCGCTGAAG	60	561	Dallenne et al., 2010
<i>oqx</i> A	GACAGCGTCGCACAGAA TG	GGAGACGAGGTTGGTAT GGA	62	339	Chen et al., 2012
<i>oqx</i> B	CGAAGAAAGACCTCCCTA CCC	CGCCGCCAATGAGATAC A	62	240	Chen et al., 2012
<i>qnr</i> A	AGAGGATTTCTCACGCCA GG	TGCCAGGCACAGATCTTG AC	55	580	Cattoir et al., 2007
<i>qnr</i> B	GGMATHGAAATTCGCCA CTG	TTTGCYGYCGCCAGTCC AA	55	264	Cattoir et al., 2007
<i>qnr</i> S	GCAAGTTCATTGAACAGG GT	TCTAAACCGTCGAGTTCC GCG	55	428	Cattoir et al., 2007
<i>tet</i> (A)	GCTACATCCTGCTTGCCT TC	CATAGATCGCCGTAAGA GG	55	210	Ng et al., 2001
<i>tet</i> (B)	TTGGTTAGGGCAAGTTT TG	GTAATGGGCCAATAACAC CG	55	659	Ng et al., 2001
<i>sul</i> 1	CGGCGTGGGCTACCTGA ACG	GCCGATCGCGTGAAGTT CCG	69	433	Kern et al., 2002
<i>sul</i> 2	GCGCTCAAGGCAGATGG CATT	GCGTTTGATACCGGCAC CCGT	69	293	Kern et al., 2002
<i>aac</i> (6')-Ib	TATGAGTGGCTAAATCGA T	CCCCTTTCTCGTAGCA	55	395	Ploy et al., 1994
<i>aph</i> (3')-Ia	CGAGCATCAAATGAAACT GC	GCGTTGCCAATGATGTTA CAG	55	623	Noppe-Leclercq et al., 1999

## 4. Resultados

### 4.1. Universo amostral

Foram coletadas amostras de 50 cães durante março e outubro de 2024, sendo 26 machos (52%) e 24 fêmeas (48%). Quarenta cães eram adultos – 12 meses ou mais (80%) e 10 eram filhotes (20%), com idades variando entre 2 meses e 15 anos. Os dados desagregados podem ser visualizados na Quadro 2.

Dentre os 50 animais incluídos, 41 foram atendidos no Hovet-Unisa (82%) e nove no hospital Dr. Hato (18%). A minoria dos cães (11 dos 50 – 22%) apresentavam sintoma clínico compatível com possível afecção em trato respiratório, enquanto 39 eram assintomáticos (78%).

Quadro 2. Dados dos cães incluídos no estudo.

ID	Sexo	Idade	Raça	Local	Sintoma
1	Macho	Filhote	Maltês	UNISA	Assintomático
2	Macho	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
3	Macho	Adulto	Yorkshire Terrier	UNISA	Assintomático
4	Fêmea	Adulto	Yorkshire Terrier	UNISA	Assintomático
5	Fêmea	Filhote	Poodle	UNISA	Tosse e secreção nasal
6	Macho	Adulto	Daschund	HATO	Tosse e secreção nasal
7	Fêmea	Adulto	Bealge	HATO	Tosse seca
8	Fêmea	Filhote	Sem raça definida	HATO	Tosse seca
9	Macho	Adulto	Sem raça definida	HATO	Tosse seca
10	Fêmea	Adulto	American Bully	HATO	Tosse seca
11	Fêmea	Adulto	Spitz Alemão	HATO	Tosse seca
12	Macho	Adulto	Sem raça definida	HATO	Tosse seca
13	Fêmea	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
14	Macho	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
15	Macho	Adulto	Sem raça definida	HATO	Tosse seca
16	Macho	Adulto	Sem raça definida	HATO	Tosse
17	Macho	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Tosse Produtiva
18	Macho	Filhote	Spitz Alemão	UNISA	Assintomático
19	Fêmea	Filhote	Golden Retriever	UNISA	Assintomático
20	Fêmea	Adulto	Golden Retriever	UNISA	Assintomático
21	Macho	Filhote	Pitbull	UNISA	Assintomático
22	Fêmea	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático

23	Fêmea	Filhote	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
24	Macho	Adulto	Poodle	UNISA	Assintomático
25	Fêmea	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
26	Macho	Adulto	Cocker Spaniel	UNISA	Assintomático
27	Fêmea	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
28	Fêmea	Adulto	Pinscher	UNISA	Assintomático
29	Macho	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
30	Fêmea	Adulto	Yorkshire Terrier	UNISA	Assintomático
31	Fêmea	Adulto	Chow-chow	UNISA	Assintomático
32	Macho	Adulto	Yorkshire Terrier	UNISA	Assintomático
33	Fêmea	Adulto	Golden Retriever	UNISA	Assintomático
34	Fêmea	Adulto	Biewer Terrier	UNISA	Assintomático
35	Fêmea	Adulto	Yorkshire Terrier	UNISA	Assintomático
36	Fêmea	Filhote	Poodle	UNISA	Assintomático
37	Fêmea	Filhote	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
38	Macho	Adulto	Pastor Alemão	UNISA	Assintomático
39	Macho	Adulto	Daschund	UNISA	Assintomático
40	Macho	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
41	Fêmea	Adulto	Pastor Alemão	UNISA	Assintomático
42	Macho	Adulto	Cocker Spaniel	UNISA	Assintomático
43	Macho	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
44	Macho	Adulto	Yorkshire Terrier	UNISA	Assintomático
45	Fêmea	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
46	Macho	Adulto	Spitz Alemão	UNISA	Assintomático
47	Macho	Adulto	Spitz Alemão	UNISA	Assintomático
48	Macho	Adulto	Bull terrier	UNISA	Assintomático
49	Fêmea	Adulto	Sem raça definida	UNISA	Assintomático
50	Macho	Filhote	Yorkshire Terrier	UNISA	Assintomático

#### 4.2. Isolamento e identificação bacteriana

Das amostras biológicas coletadas dos 50 cães incluídos no estudo, 14 (28%) apresentaram crescimento bacteriano, sendo as espécies bacterianas identificadas por meio da técnica MALDI-TOF, conforme descrito na Quadro 3. Quatro cães (1, 2, 3 e 4) todos assintomáticos, tiveram crescimento de mais de uma espécie bacteriana em suas amostras. Entre os 14 animais positivos, 35,7% (5 cães) apresentavam sinais clínicos, enquanto 64,3% (9 cães) eram assintomáticos.

Quadro 3. Lista de isolados bacterianos com identificação MALDI-TOF de Bactérias ESKAPE

ID	SINTOMA	Origem da amostra	Espécie do isolado (MALDI-TOF)
1	Assintomático	Nasofaríngeo/Ocular Orofaringe	<i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterobacter Kobei</i>
2	Assintomático	Orofaringe	<i>Enterobacter Kobei</i>
3	Assintomático	Nasofaríngeo/Ocular Orofaringe	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
6	Tosse e secreção nasal	Nasofaríngeo/Ocular	Não identificada
21	Assintomático	Orofaringe	<i>Enterobacter hormaechei</i> / não identificada
23	Assintomático	Orofaringe	<i>Enterobacter hormaechei</i>
27	Assintomático	Orofaringe	<i>Enterobacter hormaechei</i>

Tabela 4. Lista de isolados bacterianos com identificação MALDI- TOF de bactérias não pertencentes ao grupo ESKAPE

ID	SINTOMA	Origem da amostra	Espécie do isolado (MALDI-TOF)
4	Assintomático	Nasofaríngeo/Ocular Orofaringe	<i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Streptococcus minor</i>
6	Tosse e secreção nasal	Nasofaríngeo/Ocular	Não identificada
11	Tosse seca	Orofaringe	<i>Staphylococcus cohnii</i>
12	Tosse seca	Orofaringe	<i>Escherichia coli</i>
15	Tosse seca	Orofaringe	<i>Glutamicibacter soli</i>
16	Tosse	Orofaringe	<i>Staphylococcus cohnii</i>
24	Assintomático	Orofaringe	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
27	Assintomático	Orofaringe	<i>Mammaliococcus sciuri</i>

No total, foram isoladas 18 bactérias, das quais 11 (61,1%) pertenciam ao grupo ESKAPE. Esses isolados foram selecionados para os testes de suscetibilidade antimicrobiana e avaliação de genes de resistência.

#### 4.3. Suscetibilidade antimicrobiana

Entre os 11 isolados do grupo ESKAPE identificados pelo MALDI-TOF, seis (54,5%) demonstraram resistência a pelo menos um antimicrobiano em testes de disco-difusão. Desses, cinco eram bactérias Gram-negativas e uma Gram-positiva. Nenhum dos isolados apresentou produção de  $\beta$ -lactamase de espectro estendido (ESBL), e apenas dois exibiram produção de AmpC plasmidial. Os dados podem ser visualizados na Quadro 5.

Dentre os isolados sensíveis a antimicrobianos, destacam-se a bactéria isolada do cão 12 (*E. coli*), que apresentou sensibilidade para todos os 15 antimicrobianos testados, a isolada do cão 3 (*Pseudomonas aeruginosa*), que apresentou sensibilidade aos 6 antimicrobianos testados e a do cão 24 (*Stenotrophomonas maltophilia*), que apresentou sensibilidade ao sulfametoxazol trimetoprim, único antimicrobiano testado. Já o isolado do cão 29 (*E. coli*) apresentou sensibilidade a 12 dos 15 antimicrobianos testados e sensibilidade intermediária a outros 3.

O isolado com o maior número de resistências foi *Serratia marcescens* (cão 9), resistente a 10 dos 15 antimicrobianos avaliados. Em seguida, o isolado de *Enterococcus faecium* (cão 10) demonstrou resistência a 5 dos 7 antimicrobianos testados.

Quadro 5. Resultados do teste de disco-difusão das bactérias isoladas pertencentes ao grupo ESKAPE.

ID	Espécie	Disco-difusão																
		ATM	SUT	ERT	CRO	NAL	IPM	CTX	AMC	CAZ	CFO	MPM	CPM	CIP	TET	GEN	ESBL	AmpC
<b>Gram-Negativa</b>																		
15	<i>K. variicola</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	Não	Não	
23	<i>Enterobater hormaechei</i>	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	Não	Não	
12	<i>E. coli</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Não	Não	
5	<i>Enterobacter kobei</i>	S	S	S	R	S	S	R	R	S	R	S	SDD	S	S	R	Não	Sim
21	<i>Enterobater hormaechei</i>	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	SDD	S	S	S	Não	Sim	
29	<i>E. coli</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I	S	I	Não	Não	
19	<i>Enterobater hormaechei</i>	S	R	I	S	S	S	R	R		R	S	S	S	S	Não	Não	
9	<i>Serratia marcescens</i>	R	R	I	R	R	S	R	RI	R	RI	S	R	R	R	R	Não	Não
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S	RI	RI	RI	RI	S	RI	RI	S	RI	S	S	S	RI	RI	Não	Não
24	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	RI	S	RI	RI	RI	RI	RI	RI	RI	RI	RI	RI	RI	RI	RI	Não	Não
<b>Gram-Positiva</b>																		
		PEN	VAN	ERI	TET	CIP	NIT	CLO										
10	<i>Enterococcus faecium</i>	R	I	R	R	R	R	I										

ATM – aztreonam; SUT – sulfametoxazol trimetoprim; ERT- ertapenem; IPM – imipenem; CRO – ceftroxona; NAL – ácido nalidixico; CTX – cefotaxima; AMC – amoxicilina com ácido clavulânico; CAZ – ceftazidima; CFO - cefoxitina; MPM - meropenem; CPM- cefepime; CIP- ciprofloxacina; TET – tetraciclina; GEN- gentamicina; PEN – penicilina; VAN- vancomicina; EPI- eritromicina; NIT – nitrofurantoína; CLO – cloranfenicol; ESBL: Extended Spectrum Beta-Lactamase; AmpC: AMP plasmidial; S: Sensível; I: Sensibilidade Intermediária; SDD: Sensível Dose Dependente; R: Resistente; RI: Resistência Intrínseca. Droga não testada.

O antimicrobiano com maior número de bactérias resistentes foi a amoxicilina com ácido clavulânico, com 4 isolados resistentes. Outros antimicrobianos com altos índices de resistência incluíram cefotaxima e cefoxitina (3 isolados resistentes cada) e sulfametoxazol-trimetoprim, ceftriaxona e gentamicina (2 isolados resistentes cada).

#### 4.4. Genes de resistência

Todos os isolados de bactérias pertencentes ao grupo ESKAPE apresentaram a presença de ao menos um dos genes pesquisados, com os dados descritos na Quadro 6. Os isolados com maior quantidade de genes de resistência incluem *Klebsiella variicola* (cão 15 – 4 genes), *Enterobacter hormaechei* (cães 23 – genes, 19 – 4 genes e 21 – 3 genes), e *E. coli* (cães 12 – 5 genes e 29 – 4 genes), todos apresentando múltiplos genes associados a resistência antimicrobiana.

Quadro 6. Genes de resistência presentes nos isolados bacterianos identificados.

ID	Espécie	Genes													
		CTX-M1	CTX-M2	CTX-M9	oqxA	oqxB	qnrA	qnrB	qnrS	tetA	tetB	sul1	sul2	aac(6')-Ib	aph(3')-Ia
15	<i>K. variicola</i>	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
23	<i>Enterobater hormaechei</i>	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
12	<i>E. coli</i>	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
5	<i>Enterobacter kobei</i>	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
21	<i>Enterobater hormaechei</i>	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	Não	Não
29	<i>E. coli</i>	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
19	<i>Enterobater hormaechei</i>	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
9	<i>Serratia marcescens</i>	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	Não	Não
24	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	Não	Não

Os genes *sul1*, *su2*, *aac(6')-Ib* e *aph(3')-Ia* foram os mais frequentemente detectados nos isolados – em 9, 10, 7 e 7 isolados respectivamente, indicando resistência a sulfonamidas e aminoglicosídeos, respectivamente. A presença dos

genes *CTX-M* (*M1*, *M2* e *M9*), que conferem resistência às cefalosporinas de espectro estendido (ESBL), foi ausente em todos os isolados analisados. Já dentre os genes *oqxA*, *oqxB*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, que são relacionados à resistência a quinolonas foi apenas identificado o *oqxB* em um dos isolados (*Enterobacter hormaechei*).

## 5. Discussão

A identificação de bactérias do grupo ESKAPE em cães chama a atenção para o papel desses animais como possíveis reservatórios de patógenos resistentes a antimicrobianos (Santaniello et al.,2020). No presente estudo, 61,1% dos isolados bacterianos pertenciam a esse grupo, que é amplamente reconhecido por seu papel em infecções humanas graves e sua capacidade de evadir tratamentos antimicrobianos comumente utilizados (de Oliveira et al., 2020). Esses dados reforçam a relevância da interface homem-animal no contexto de saúde única, considerando a convivência próxima entre cães e seus tutores, que pode facilitar o intercâmbio de microrganismos e genes de resistência.

Embora a ausência de isolados produtores de ESBL seja um achado positivo, a detecção de dois isolados com AmpC plasmidial destaca a presença de mecanismos relevantes de resistência. A resistência a antimicrobianos amplamente utilizados na prática clínica, como a amoxicilina com ácido clavulânico e cefalosporinas de terceira geração, é preocupante, especialmente em relação aos isolados de *Serratia marcescens* e *Enterococcus faecium*, que apresentaram resistência a um número significativo de drogas (Tavares-Carreon et al., 2023; Hayes et al., 2004). Os resultados do presente estudo sugerem que bactérias resistentes podem estar circulando no ambiente, inclusive entre animais domésticos.

Outro dado relevante foi a proporção significativa de bactérias isoladas em cães assintomáticos (64,3%). Isso indica que, além de apresentarem risco direto à saúde dos próprios animais, esses cães podem atuar como reservatórios silenciosos de patógenos resistentes, contribuindo para sua disseminação no ambiente domiciliar e, potencialmente, em contextos mais amplos (Santaniello et al.,2020;). Esse achado é particularmente preocupante, considerando o uso indiscriminado de antimicrobianos na prática veterinária e a proximidade desses animais com humanos (Yu et al.,2014).

A resistência observada a antimicrobianos de uso veterinário e humano levanta a necessidade de estratégias integradas para controle e prevenção, como o uso racional de antimicrobianos e o fortalecimento de políticas de vigilância

epidemiológica (Who,2022; Velazquez-Meza,2022). Por exemplo, a resistência ao sulfametoxazol-trimetoprim em isolados de *Stenotrophomonas maltophilia*, um antimicrobiano considerado de escolha para essa espécie, ilustra a importância de realizar testes de suscetibilidade antes de iniciar o tratamento, evitando terapias ineficazes (CLSI,2023).

Os genes *sul1*, *su2*, que indicam resistência a sulfonamidas (Jiang et al., 2019) e *aac(6')-Ib* e *aph(3')-Ia* que indicam resistência a aminoglicosídeos (Vakulenko et al., 2003) foram os mais frequentemente detectados nos isolados. A presença dos genes CTX-M (M1, M2 e M9), que conferem resistência às cefalosporinas de espectro estendido (ESBL), foi ausente em todos os isolados analisados, sugerindo uma menor prevalência desse mecanismo de resistência nos isolados em circulação dentre os cães atendidos. Por outro lado, a alta frequência dos genes *sul1* e *su2* reflete uma ampla resistência às sulfonamidas, antibióticos frequentemente utilizados em infecções bacterianas humanas e animais (Vidal et al., 2020; Razavi et al., 2017). A detecção de genes como *aac(6')-Ib* e *aph(3')-Ia* alerta para resistência a aminoglicosídeos, que são antibióticos críticos no tratamento de infecções graves (Liu et al., 2023, Zhang et al., 2019).

Um estudo realizado por Ishii et al. (2011) revelou uma alta resistência a antibióticos, incluindo sulfonamidas, em bactérias isoladas de cães, o que sugere que esses animais podem atuar como reservatórios de resistência. Além disso, a pesquisa de Silva et al. (2014) indica que a multirresistência em estafilococos, frequentemente encontrada em cães, pode ser um fator de risco para a saúde humana, especialmente em ambientes onde há contato próximo. A resistência a antibióticos, como a meticilina, é uma preocupação crescente, pois cepas resistentes podem ser transmitidas entre cães e humanos, levando a infecções difíceis de tratar (Sousa et al., 2021). Além disso, a pesquisa de Oliveira et al. (2012) destaca que a presença de microrganismos resistentes na pele e mucosas de cães pode facilitar a transmissão de resistência para humanos, especialmente em casos de ferimentos ou contato direto. A transferência de genes de resistência ocorre não apenas de animais para humanos, mas também na direção oposta, o que complica ainda mais o cenário da resistência antimicrobiana (Sousa et al., 2021).

Esses achados possuem ainda implicações significativas no contexto da saúde única, já que bactérias resistentes provenientes de cães podem atuar como reservatórios para genes de resistência que podem ser transferidos para outros animais, seres humanos e o ambiente (Santaniello et al.,2020;). O contato próximo entre cães e humanos em ambientes domésticos, associado à eliminação de bactérias resistentes no ambiente, potencializa a disseminação desses genes. Especificamente, bactérias como *Klebsiella variicola* e *Escherichia coli*, que são patógenos oportunistas, podem causar infecções em humanos e outros animais, agravando a crise da resistência antimicrobiana já que ambas as espécies são frequentemente isoladas em infecções associadas a dispositivos médicos e em ambientes hospitalares, onde a pressão seletiva do uso de antibióticos favorece a emergência de cepas resistentes (Morgado et al., 2022; Herdiyanti et al., 2019).

Os resultados obtidos no presente trabalho enfatizam a necessidade de uma vigilância contínua e de estratégias integradas para o uso racional de antimicrobianos em medicina veterinária. Além disso, reforçam a importância do desenvolvimento de políticas de controle que considerem a interface animal-humano-ambiente para mitigar os riscos associados à disseminação de resistência antimicrobiana. Enfatizam também a necessidade de maior atenção ao papel dos animais de companhia na disseminação de resistência antimicrobiana. Estudos futuros serão necessários a fim de investigar os fatores epidemiológicos e comportamentais que podem estar associados à presença de bactérias do grupo ESKAPE em cães, além de explorar o impacto do uso de antimicrobianos em animais assintomáticos.

## 6. Conclusão

Foram isoladas e identificadas bactérias pertencentes ao grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Enterobacter Kobei*, *Enterobacter homachei*, *Pseudomonas aeruginosa*).

O *Enterococcus faecium*, *Enterobacter Kobei* e *Enterobacter homachei* apresentou resistência a.

As *Pseudomonas aeruginosa* não apresentaram resistência.

A identificação de genes de resistência prioritários como blaNDM, blaKPC, mcr-1 e mecA, em isolados bacterianos do trato respiratório de cães destaca a importância desses animais como reservatório e vetores de resistência.

O estudo ressalta a importância dos cães em estudos da RAM pois revelou que cães assintomáticos podem ter bactérias que apresentam resistência.

## Referências

ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular mechanisms of antibacterial. Multidrug resistance. *Cell*, v. 128, n. 6, p. 1037-1050, 2007.

AUSTRALIAN COMMISSION ON SAFETY AND QUALITY IN HEALTH CARE. AURA 2019. Third Australian report on antimicrobial use and resistance in human health. 2019. Disponível em: <https://www.safetyandquality.gov.au/sites/default/files/2019-06/AURA-2019-Report.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2024.

CHEN, X. et al. Prevalence of qnr, aac(6')-Ib-cr, qepA, and oqxAB in *Escherichia coli* isolates from humans, animals, and the environment. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 56, p. 3423-3427, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.06191-11>. Acesso em: 19 nov. 2024.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 33rd ed. CLSI Supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023.

COOMBS, G. W. et al. Molecular epidemiology of enterococcal bacteremia in Australia. *J Clin Microbiol.*, v. 52, p. 897–905, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JCM.03286-13>. Acesso em: 19 nov. 2024.

DALLENNE, C. et al. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in *Enterobacteriaceae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, v. 65, p. 490-495, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dkp498>. Acesso em: 19 nov. 2024.

DE OLIVEIRA, D. M. P. et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev.*, v. 33, n. 3, p. e00181-19, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7227449/>. Acesso em: 21 nov. 2024.

HAYES, J., ENGLISH, L., CARR, L., WAGNER, D., & JOSEPH, S. (2004). Multiple-Antibiotic Resistance of *Enterococcus* spp. Isolated from Commercial

Poultry Production Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 6005 - 6011. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.10.6005-6011.2004>.

HERDIYANTI, H., ALIMSDARDJONO, L., & INDIASTUTI, D. N. (2019). Resistance patterns of escherichia coli and klebsiella pneumoniae bacteria against amikacin, ceftazidime, meropenem, nitrofurantoin antibiotics in elderly patients with uti in rsud dr. soetomo. *JUXTA: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Universitas Airlangga*, 10(1), 20. <https://doi.org/10.20473/juxta.v10i12019.20-24>

ISHII, J. B., FREITAS, J. C. D., & ÁRIAS, M. V. B. (2011). Resistência de bactérias isoladas de cães e gatos no hospital veterinário da universidade estadual de londrina (2008-2009). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31(6), 533-537. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2011000600013>

JIA, J. et al. Occurrence and distribution of antibiotics and antibiotic resistance genes in Ba River, China. *Sci. Total Environ.*, v. 642, p. 1136-1144, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.149>. Acesso em: 21 nov. 2024.

JIANG, H., CHENG, H., LIANG, Y., YU, S., YU, T., FANG, J., & ZHU, C. (2019). Diverse Mobile Genetic Elements and Conjugal Transferability of Sulfonamide Resistance Genes (sul1, sul2, and sul3) in Escherichia coli Isolates From Penaeus vannamei and Pork From Large Markets in Zhejiang, China. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01787>.

JONAS, O. B. et al. Drug-resistant infections: a threat to our economic future (Vol. 2): final report. HNP/Agriculture Global Antimicrobial Resistance Initiative. Washington, D.C.: World Bank Group, 2017. Disponível em: <http://documents.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/final-report>. Acesso em: 18 nov. 2024.

KOURTIS, A. P. et al. Vital signs: epidemiology and recent trends in methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus bloodstream infections—United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*, v. 68, p. 214–219, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6809e1>.

LIU, Y. Y. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and

molecular biological study. *Lancet Infect. Dis.*, v. 16, p. 161-168, 2015. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7). Acesso em: 19 nov. 2024.

MORGADO, S., FONSECA, É., & MORENO-VICENTE, C. (2022). Genomics of *klebsiella pneumoniae* species complex reveals the circulation of high-risk multidrug-resistant pandemic clones in human, animal, and environmental sources. *Microorganisms*, 10(11), 2281. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112281>

OLIVEIRA, V. B. D., RIBEIRO, M. G., ALMEIDA, A. C. D. S., PAES, A. C., CONDAS, L. A. Z., LARA, G. H. B., ... & LISTONI, F. J. P. (2012). Etiologia, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e aspectos epidemiológicos na otite canina: estudo retrospectivo de 616 casos. *Semina: Ciências Agrárias*, 33(6), 2367-2374. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n6p2367>

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). A crescente ameaça da resistência antimicrobiana: opções de ação. 2012. Disponível em: [https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/75389/OMS\\_IER\\_PSP\\_2012.2\\_por.pdf?sequence=3](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/75389/OMS_IER_PSP_2012.2_por.pdf?sequence=3). Acesso em: 10 out. 2024.

RAZAVI, M. R., MARATHE, N. P., GILLINGS, M. R., FLACH, C., KRISTIANSSON, E., & LARSSON, D. G. J. (2017). Discovery of the fourth mobile sulfonamide resistance gene. *Microbiome*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0379-y>

SANTANIELLO, A. et al. Systematic Review and Meta-Analysis of the Occurrence of ESKAPE Bacteria Group in Dogs, and the Related Zoonotic Risk in Animal-Assisted Therapy, and in Animal-Assisted Activity in the Health Context. *Int J Environ Res Public Health.*, v. 17, n. 9, p. 3278, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph17093278>. Acesso em: 19 nov. 2024.

SILVA, A. P. D., SCHMIDT, C., VARGAS, A. C. D., MABONI, G., RAMPELOTTO, C., SCHWAB, M. L. & FILHO, S. T. L. P. (2014). Suscetibilidade antimicrobiana de *staphylococcus* spp. isolados de cães com pioderma superficial. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(4), 355-361. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2014000400010>

SILVA, D. M. et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of ESKAPE pathogens from the Federal District, Brazil. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 53, n. 4, p. 240–245, 2017.

SOUSA, S. K. S. A. D., CASSEB, A. D. R., PEREIRA, E. C., & MENESES, A. M. C. (2021). Susceptibilidade dos staphylococcus spp. isolados da pele de cães com piodermite recidivante. *Research, Society and Development*, 10(4), e34910413648. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13648>

TAVARES-CARREON F, DE ANDA-MORA K, ROJAS-BARRERA IC, ANDRADE A. *Serratia marcescens* antibiotic resistance mechanisms of an opportunistic pathogen: a literature review. *PeerJ*. 2023 Jan 5;11:e14399. doi: 10.7717/peerj.14399. PMID: 36627920; PMCID: PMC9826615.

VAKULENKO SB, DONABEDIAN SM, VOSKRESENSKIY AM, ZERVOS MJ, LERNER SA, CHOW JW. Multiplex PCR for detection of aminoglycoside resistance genes in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Apr;47(4):1423-6. doi: 10.1128/AAC.47.4.1423-1426.2003. PMID: 12654683; PMCID: PMC152526.

VANEGAS, J. M. et al. Post-antibiotic era in hemodialysis? Two case reports of simultaneous colonization and bacteremia by multidrug-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Nephrology*, v. 43, n. 4, p. 597–602, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbn/a/rnQDjBpmXJyGHHxJHv76mWc/?lang=pt>. Acesso em: 10 nov. 2024.

VELAZQUEZ-MEZA, M. E. et al. Antimicrobial resistance: One Health approach. *Vet World.*, v. 15, n. 3, p. 743-749, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.743-749>. Acesso em: 19 nov. 2024.

VERRAES, C. et al. Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *Int J Environ Res Public Health.*, v. 10, n. 7, p. 2643-2669, 2013.

VIDAL, À. M., AGUIRRE, L., SEMINATI, C., TELLO, M., REDONDO, N., MARTÍN, M. & DARWICH, L. (2020). Antimicrobial resistance profiles and characterization of escherichia coli strains from cases of neonatal diarrhea in spanish pig farms. *Veterinary Sciences*, 7(2), 48. <https://doi.org/10.3390/vetsci7020048>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022. Geneva: World Health Organization, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>. Acesso em: 18 dez. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. 2017. Disponível em: [http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short\\_Summary\\_25Feb-ET\\_NM\\_WHO.pdf?ua=1](http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1). Acesso em: 10 nov. 2024.

YU, H. et al. Navigating ESKAPE Pathogens: Considerations and Caveats for Animal Infection Models Development. *ACS Infect Dis.*, v. 10, n. 7, p. 2336-2355, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.4c00007>. Acesso em: 19 nov. 2024.

ZHANG, B., KU, X., YU, X., SUN, Q., WU, H., CHEN, F. & HE, Q. (2019). Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens in chinese pig farms from 2013 to 2017. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45482-8>

## Apêndice 1



### COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

#### PARECER N.10/2023

**Projeto de Pesquisa:** " Ocorrência de Patógenos do complexo infeccioso respiratório canino em cães atendidos no Hovet-Unisa".

**Pesquisadores Responsáveis:** Prof. Bruno Alonso Miotto

**Curso:** Medicina Veterinária- Mestrado Bem Estar Animal

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 " **Ocorrência de Patógenos do complexo infeccioso respiratório canino em cães atendidos no hovet-Unisa** ".

São Paulo, 30 de maio de 2023.

**PROFA. DRA. VALERIA CASTILHO ONOFRIO**

Coordenadora do Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA

## Apêndice 2

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estes esclarecimentos estão sendo apresentados para solicitar sua participação livre e voluntária no projeto "Ocorrência de patógenos do Complexo Infecioso Respiratório Canino em cães atendidos no Hovet-UNISA", do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro - UNISA, que será realizado pelo pesquisador Bruno Alonso Miotto. A pesquisa pretende atualizar a prevalência dos principais agentes (vírus e bactérias) do complexo doença respiratória infecciosa canina em cães sintomáticos ou assintomáticos que frequentam hospitais ou clínicas veterinárias em diferentes regiões do Brasil. A pesquisa traz como benefício conhecer os principais agentes (vírus e bactérias) do complexo doença respiratória infecciosa canina circulantes no Brasil pode ajudar a estabelecer melhores programas de tratamento e controle para esta doença, incluindo o desenvolvimento de vacinas mais adequadas à realidade brasileira. Além disso, o conhecimento do agente etiológico pode determinar, em conjunto com a evolução clínica, o tipo de tratamento para cada animal (sintomático X específico).

Os riscos são mínimos, atribuídos somente às coletas no animal. Entretanto, os cães poderão se agitar ou apresentar ansiedade/desconforto durante a colheita da amostra. No caso de necessidade de sedação ou anestesia geral, há risco de redução da pressão arterial e, em casos, extremamente raros, óbito relacionado aos anestésicos empregados. Caso haja algum efeito adverso decorrente do procedimento de sedação, os animais serão mantidos na clínica/hospital até a pronta recuperação. Somente ao final do estudo poderemos concluir o procedimento diagnóstico, e caso queira ter acesso aos resultados, favor entrar em contato com o responsável pelo projeto para mais informações. Serão colhidas duas amostras de secreções respiratórias (cavidade nasal ou orofaringe), mediante a introdução de um swab estéril ("cotonete") nas narinas e outro na região profunda da garganta. Essas amostras serão conservadas em um meio adequado para envio a um laboratório onde será feita a identificação dos agentes (vírus e bactérias). Para a colheita das amostras, a critério do médico-veterinário responsável, poderá ser feita uma sedação e ou anestesia geral do animal.

É garantido o acesso, em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas ou informações sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores. O pesquisador responsável é o Prof. Bruno Alonso Miotto, que pode ser encontrado no endereço Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto 340 (Campus I UNISA) Telefone (11) 2141-8687. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) – Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP – Tel.: 2141-8687. É garantida sua liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de qualquer benefício que você tenha obtido junto à Instituição, antes, durante ou após o período deste Comitê de Ética em Pesquisa – Unisa.

As informações obtidas pelos pesquisadores serão analisadas em conjunto com as de outros participantes, não sendo divulgada a identificação de nenhum deles. Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dano pessoal, diretamente relacionado aos procedimentos deste estudo (nexo causal comprovado), a qualquer tempo, fica assegurado ao participante o respeito a seus direitos legais, bem como procurar obter indenizações por danos eventuais. Uma via deste Termo de Consentimento ficará em seu poder.

São Paulo, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (pesquisadores)

Se você concordar em participar desta pesquisa assinie no espaço determinado abaixo e coloque seu nome e o no de seu documento de identificação.

Nome: (do participante): .....  
 Doc. Identificação: .....  
 Ass: .....

Nome: (do representante legal) .....  
 Doc. Identificação: .....  
 Nível de representação: (genitor, tutor, curador, procurador.) .....  
 Nome do participante: .....

Declaro (amos) que obtive (mos) de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante (ou do representante legal deste participante) para a participação neste estudo, conforme preconiza a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, IV.3 a 6.

Assinatura do pesquisador responsável pelo estudo:  
 Data: