

**UNIVERSIDADE SANTO AMARO**

**Mestrado em Saúde Única**

**Gustavo da Silva Schiavi**

**MONITORAMENTO DE *Escherichia coli*  
ESBL –BETALACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO NA REGIÃO  
SUL DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO**

**São Paulo**

**2024**

**Gustavo da Silva Schiavi**

**MONITORAMENTO DE *Escherichia coli*  
ESBL –BETALACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO NA REGIÃO  
SUL DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* Mestrado em Saúde Única da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientador(a): Prof.<sup>a</sup> Dra. Adriana Cortez.

**São Paulo**

**2024**

S351m Schiavi, Gustavo da Silva.  
Monitoramento de Escherichia coli ESBL –beta lactamase  
de espectro estendido na região sul do município de São Paulo  
/ Gustavo da Silva Schiavi. – São Paulo, 2024.  
36 p. : il., color.  
Orientador: Adriana Cortez.  
Dissertação. (Mestrado em Saúde Única) – Universidade  
Santo Amaro, 2024.  
Bibliografia incluída.  
1. E. coli. 2. ESBL. 3. Cães e Gatos. I. Cortez, Adriana, orient.  
II. Universidade Santo Amaro. III. Título.  
CDD 579.3

Elaboradora pela Bibliotecária: Milena Braz Martins CRB-8/9974

Ativ  
Ass

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

**PARECER N. 19 / 2022**

**Projeto de Pesquisa: "Caracterização de *Escherichia coli* isoladas de fezes de animais de companhia atendidos na campanha de castração da região sul do município de São Paulo"**

**Pesquisador Responsável:** Prof. Adriana Cortez / Gustavo da Silva Schiavi

**Curso:** Medicina Veterinária

Prezado Pesquisador:

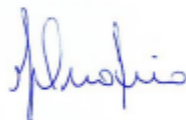
Ao se proceder à análise do processo em questão, coube a seguinte deliberação:

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 *Escherichia coli* isoladas de fezes de animais de companhia atendidos na campanha de castração da região sul do município de São Paulo**".

**\* 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, 27 de setembro de 2022.



**PROFA. DRA. VALERIA CASTILHO ONOFRIO**

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

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Eduardo Silva Schiavi que sempre instruiu a evoluir e a minha mãe Eliane Teresinha da Silva Schiavi que, de onde estiver, me mantém firme nesta jornada.

As minhas irmãs Cibele da Silva Schiavi e a Caroline da Silva Schiavi que sempre estiveram ao meu lado e me deram meus sobrinhos Pedro Henrique, Enzo, Livia e estamos ansiosos para conhecer a Maria Clara. Agradeço a toda minha família pelo suporte.

Ao meu namorado Jhefferson Miranda Alves que apareceu na melhor hora e ficou ao meu lado nos finais de semana estudando comigo.

Aos meus amigos Juliana Moncayo, Juliana Nhanhareli, Andressa Kotleski, Vanessa Uemura.

A minha orientadora que admiro muito Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Adriana Cortez pela oportunidade e pela confiança que me deposita desde a graduação.

A UNISA por ser parte da minha vida desde 2010, durante a graduação, residência, pós-graduação *lato sensu*, contratado pelo serviço de cirurgia do Hovet e agora permitindo a realização do Mestrado com o auxílio da bolsa no programa de pós-graduação *Stricto sensu*.

Ao Professor Marcos Bryan Heinemann, Gabriel Siqueira dos Santos, Natália Carillo Gaeta do VPS/ FMVZ/ USP.

Ao Laboratório Veterinário VIDAVET e sua equipe formada por: Carla Gasparotto Chande Vasconcelos, Larissa Regina Gomes Da Silva e Juliana Maria Quinalha.

E ao Prof<sup>o</sup> Dr Rafael Garabet Agopian por abrir as portas do mundo profissional da Medicina Veterinária, por permitir a entrada, acolhimento e suporte na coleta das amostras das campanhas de castração e quem admiro muito.

## RESUMO

**Introdução:** Nas últimas décadas houve um crescimento na prevalência de doenças infecciosas, zoonoses e microrganismos multirresistentes, decorrente de um desequilíbrio na Saúde humana, animal e ambiental. As enterobactérias são patógenos de grande importância para saúde única devido a sua disseminação mundial, e pelo potencial caráter zoonótico. O isolamento dessas bactérias multirresistentes aos antibióticos em animais de companhia hígidos é um ponto importante a ser estudado, para avaliarmos o risco de infecção, prevenção e futuras possibilidades nos tratamentos. **Objetivo:** Monitorar as *E. coli*-ESBL provenientes da microbiota intestinal de cães e gatos atendidos pela campanha de castração da região sul do município de São Paulo. **Métodos:** Foi realizada uma amostragem de conveniência de 72 animais, cães e gatos, atendidos pela campanha de castração na região sul do município de São Paulo. Foi colhido material fecal com *swab* estéril em meio de Stuart mantido a 4°C e realizado o isolamento em meio de ágar MacConkey. A identificação dos isolados foi realizada através do MALDI-TOF MS. As amostras de *E. coli* para ESBL foram triadas por placa cromogênica e os testes confirmatórios foram feitos por disco de difusão dupla e PCR para detecção do gene codificador da enzima CTX-M. **Resultados:** Foram obtidos 167 isolados de *E. coli* dos 72 *swabs* retais de 59 cães e 13 gatos. Trinta e sete isolados ESBL triados pela placa cromogênica foram para a confirmação por PCR, utilizando *primers* direcionados para o gene CTX-M e por disco de difusão dupla. **Conclusão:** Não foi detectado isolado de *E. coli* ESBL nas amostras estudadas.

**Palavras-chave:** *E. coli*, ESBL, cães e gatos

## ABSTRACT

**Introduction:** Over the past two decades, there has been an increase in the prevalence of infectious diseases, zoonoses, and multidrug-resistant microorganisms due to an imbalance in human, animal, and environmental health. Enterobacteriaceae are pathogens of great importance to our health due to their worldwide dissemination and potential zoonotic nature. The isolation of these antibiotic-resistant bacteria in healthy pets is an important point to be studied in order to assess the risk of infection, prevention, and future treatment possibilities. **Objective:** To monitor *E. coli*-ESBL from the intestinal microbiota of dogs and cats assisted by the castration campaign in the southern region of the city of São Paulo. **Methods:** The neutering campaign in the southern part of the city of So Paulo helped to gather a convenience sample of 72 animals, including dogs and cats. Fecal material was collected with a sterile swab in Stuart's medium kept at 4°C, isolated on MacConkey agar medium, and identified using MALDI-TOF MS. The chromogenic plate was used to track the *E. coli* samples for ESBL. A double diffusion disk and PCR were used for confirmation to find the CTX-M enzyme producer gene. **Results:** 167 isolates of *E. coli* were obtained from 72 rectal swabs from 59 dogs and 13 cats. The PCR (CTX-M) and double diffusion disk confirmed 37 screened ESBL isolates. **Conclusion:** Although it was not possible to detect *E. coli*\_ESBL, continued monitoring is necessary to establish risk and safety measures to prevent spread among multi-species families.

**Keywords:** *E. coli*; ESBL; dogs, cats

## LISTA DE ABREVIATURAS

APEC	<i>E. coli</i> Patogênica Aviária
CEUA	Comitê de Ética e Pesquisa em uso animal
CLSI	Clinical Laboratory Standarts Institute
CMI	Concentração inibitória Mínima
CMB	Concentração Mínima Bactericida
CCZ	Centro de controle de Zoonose
DAEC	<i>E. coli</i> de Aderência Difusa
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
<i>E. Coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Et. Al	Entre outros
EAEC	<i>E. coli</i> Enteroagregativa
ESBL	$\beta$ -lactamase de espectro estendido
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigênica
EHEC	<i>E. coli</i> enterohemorrágica
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasora
IRAS	Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde
ITU	Infecções do trato urinário
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapemenese
MALDI-TOF MS	Espectometria de massa assistida por matriz – ionização de tempo de voo.
MBL	Metalo $\beta$ -lactamase
NMEC	<i>E. coli</i> meningite neonatal
NTEC	<i>E. coli</i> Necrotóxicigênica

OMS	Organização Mundial da Saúde
PAIs	Phathogeniaty Islands
PCR	Polimerase Chain Reaction
RAM	Resistência aos Antimicrobianos
REDEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica para coelhos
SPP	Abreviatura de Espécies
STEC	<i>E. coli</i> Produtora de Toxina Shiga
SWAB	Cotonete
TNF	Fator de necrose tumoral
TSA	Àgar Triptona de Soja
UNISA	Universidade Santo Amaro
UPEC	<i>E. coli</i> uropatogênica

## SUMÁRIO

• 1.....	INTRODUÇÃO	8
2.1 Patótipos.....		13
2.2 Resistência da <i>E. coli</i> aos Antibióticos.....		14
2.3 Família Multi Espécie.....		16
2.4 Programa de Controle Reprodutivo de cães e gatos.....		17
• 3.....	JUSTIFICATIVA	18
• 4.....	OBJETIVOS	19
4.1 Objetivo Geral.....		19
4.2 Objetivos Específicos.....		19
• 5.....	MATERIAIS E MÉTODOS	20
5.1 Caracterização da amostragem.....		20
5.2 Locais de Colheita.....		20
5.3 Isolamento bacteriano.....		23
5.4 Identificação das colônias.....		23
5.5 Teste de triagem para isolados de de beta-lactamases de espectro estendido.....		23
5.6 Caracterização fenotípica de isolados de beta-lactamases de espectro estendido por Teste aproximação dos discos.....		23
5.7 Detecção do gene CTX-M para identificação de isolados de beta-lactamases de espectro estendido.....		24
5.8 Análise Estatística.....		24
• 6.....	RESULTADOS	24
8. CONCLUSÃO.....		28
• REFERÊNCIAS.....		29

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o trabalho interdisciplinar e intersetorial defendido pelo conceito de Saúde Única, tem enfrentado um grande desafio com a expansão da Resistência aos Antimicrobianos (RAM). Acredita-se que um dos maiores responsáveis pela RAM seja o uso indiscriminado dos agentes antimicrobianos, ocasionando seleção e acelerando o processo de resistência (AIDARA-KANE et al., 2018; MCEWEN; COLLIGNON, 2018; MIRZAYEV et al., 2021).

A RAM é um grande obstáculo para terapia antimicrobiana em pacientes doentes e uma das principais características das bactérias que são resistentes é a capacidade de produção de enzimas capazes de inativar antibióticos como, por exemplo, a beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) (BRADFORD, 2001; BUSH; JACOBY, 2010). Presente em enterobactérias resistentes, estão envolvidas em infecções de diversos hospedeiros e sistemas, causando gastroenterites, cistites, pielonefrites, vaginites, meningites, pneumonias e bacteremia e sepse (JANDA; ABBOTT, 2021).

As bactérias ESBL são um grupo de bactérias que têm enzimas capazes de hidrolisar o anel betalactâmico das penicilinas e das cefalosporinas, tornando-as inativas. As bactérias ESBL são, normalmente, gram-negativas, como a *Escherichia coli* (*E.coli*) e a *Klebsiella pneumoniae*, e se encontram habitualmente no trato gastrointestinal (BRADFORD, 2001; BUSH; JACOBY, 2010).

A *E.coli* é uma bactéria comensal que pertence a microbiota intestinal do homem e dos animais e que pode estar envolvida em quadros gastroentéricos, diarreicos em diversas espécies e também pode ocasionar infecções extra intestinais. (AIDARA-KANE et al., 2018; MCEWEN; COLLIGNON, 2018; MIRZAYEV et al., 2021).

Na década de 2000, havia relatos de *E. coli* ESBL em hospitais do norte da Jordânia (BATCHOUN; SWEDAN; SHURMAN, 2009) e a presença destas enzimas nas infecções causadas por enterobactérias está diretamente relacionada com aumento da taxa de mortalidade dos pacientes acometidos (GUPTA et al., 2011; PATEL et al., 2008; SOULI et al., 2010).

Na medicina veterinária, é estimado que os danos causados por estes patógenos são ainda maiores, primeiro pela falta de diagnóstico e segundo pelo uso indiscriminado de antibióticos devido à prescrição indevida ou a sua utilização na produção animal (SUNDSFJORD, 2008).

Em alguns países, o uso de antibióticos na ração de animais de produção como aditivos melhoradores de crescimento ainda é feito, o que contribui para seleção de agentes multirresistentes e transmissão dos genes codificadores de resistência aos antibióticos, através de transposons e plasmídeos, de bactérias não patogênicas para bactérias patogênicas (BANERJEE et al., 2020; CHEN et al., 2021; SELLERA et al., 2021).

Já a prescrição indevida de antibiótico, para tratar infecções de animais doentes, pode favorecer a seleção de bactérias resistentes aumentando o risco de infecção nos seres humanos e animais (CHEN et al., 2021; HARADA et al., 2016; SUNDSFJORD, 2008).

Os Antimicrobianos são substâncias que inibem a multiplicação ou geram a morte dos agentes biológicos e podem ser originários de substâncias naturais, de produtos semi-sintéticos ou serem sintéticos (MARTINS; CASTANHEIRA, 2013; RANG et al., 2012; RASKO et al., 2008).

A maior parte dos antibióticos tem sua origem de substâncias naturais ou semi-sintéticas como, por exemplo, as cefalosporinas, as monobactamas, os cabapenêmicos, as tetraciclina, os macrolídeos, os aminoglicosídeos, as penicilinas, oxapeninas, os lipopeptídeos, os glicopeptídeos, as estreptograminas, as rifamicinas e o cloranfenicol. Dentre os antibióticos sintéticos estão as fluoroquinolonas, oxazolidinonas e sulfonamidas (MARTINS; CASTANHEIRA, 2013; RANG et al., 2012; RASKO et al., 2008).

Os antibióticos podem ter diversos tipos de mecanismo de ação. Alguns atuam na inibição da síntese de parede celular (betalactâmicos), na inibição da síntese proteica (aminoglicosídeos), na inibição da síntese do ácido nucleico (quinolonas) ou na inibição da síntese de folato (sulfas). A maior parte possui um largo espectro de ação e pode gerar efeitos adversos tanto em humanos como em animais não humanos (DARBY et al., 2023; MARTINS; CASTANHEIRA,

2013; RANG et al., 2012; RASKO et al., 2008).

Os Antimicrobianos mais utilizados nas infecções ocasionadas por enterobactérias, tanto em seres humanos quanto em animais de companhia, são os betalactâmicos como as Cefalosporinas de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>,3<sup>a</sup> geração. Exemplos Cefalosporinas de 1<sup>a</sup> geração são a Cefalexina, o Cefadroxil, a Cefalotina, a Cefazolina, os de 2<sup>a</sup> geração, a Cefuroxima, o Cefaclor e a Cefoxitina e os de 3<sup>a</sup> geração, o Ceftriaxone, a Cefotaxime, a Ceftazidime. Ainda podem ser utilizados as Sulfonamidas, como o Sulfametoxazol-trimetoprim e Cotrimazol, as Nitrofurantoínas; e as Quinolonas, como a Norfloxacin, a Ciprofloxacina, a Lemofloxacina, a Ofloxacina e Pefloxacina. Em animais de companhia também pode ser usados, mas com meno frequência, a enrofloxacina, a marbofloxacina, e os Ácido Nalidíxico e Ácido Pipemídico (DARBY et al., 2023; MENEZES et al., 2009).

O uso indiscriminado e excessivo de antibióticos na medicina humana, medicina veterinária e na agricultura, além do uso profilático ou empírico, sub doses, uso prolongado, uso inadequado favorecem a seleção de bactérias resistentes, diminuindo as opções terapêuticas (ClíMACO, 2011, WANNMACHER, 2007).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 25% das mortes de pacientes em Unidade de terapia intensiva (UTI) são causadas por infecções bacterianas multirresistente, sendo as mais prevalentes a *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* seguidas de *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus coagulase negativa* e *Acinetobacter baumannii* (WANNMACHER, 2007). Além da UTI, as Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), quando associadas as RAM, podem também aumentar a morbidade, mortalidade, tempo de internação, custo com diagnósticos e piora do prognóstico (BASSO, et al, 2016).

## 2. REVISÃO

A *Escherichia coli* foi descrita pela primeira vez, em 1885, por Theodor Von Escherich que a denominou como *Bacterim coli commune*, posteriormente, em homenagem ao pesquisador, seu nome passou a ser *Escherichia coli* (BERCHIERI JUNIOR et al., 2009).

Pertencente à família Enterobacteriaceae, bactérias conhecidas há aproximadamente 138 anos, as *E. coli* são bacilos gram-negativos, anaeróbicas facultativas, móveis devido ao flagelo peritríquio, fermentativas e podem produzir hemolisina. Seu crescimento ideal ocorre à 37°C podendo variar de 18 a 44°C e, normalmente, habitam o trato-gastrointestinal de homens e animais tanto de indivíduos sadios como de enfermos (BORMAN et al., 1944; FERREIRA & KNÖBL, 2009; JANDA, ABBOTT, 2021).

A *E. coli* está disseminada mundialmente e apresenta capacidade de adaptação ao meio em que vive. O isolamento e crescimento ocorre em diversos meios artificiais, porém o meio ágar MacConkey é bastante empregado por ser seletivo para bactérias gram-negativas e por diferenciar bactérias fermentadoras de lactose (como a *E. coli*) das não fermentadoras (QUINN et al., 2005).

Antigamente a *E. coli* era considerada apatogênica por ser comensal e fazer parte da microbiota intestinal e só eram apontadas como patogênicas as extras intestinais, atualmente, não é mais assim. Sua patogenicidade varia de acordo com seu sorotipo e diversos fatores de virulência que apresentam mecanismos complexos e multifatoriais (QUINN et al., 2005; BERCHIERI JUNIOR et al., 2009).

Kauffmann, em 1947, classificou as *E. coli* com base nos antígenos de superfície bacterianos, como antígenos somáticos (Öhne – “O”), flagelares (Hauch – “H”), capsulares (Kapsel – “K”), e fimbriais (Fimbriae – “F”). Atualmente são descritos mais de mais de 50 antígenos flagelares, 100 antígenos capsulares e quase 180 antígenos somáticos. Essa classificação permite estudos epidemiológicos e ajuda na classificação de virulência e suas manifestações clínicas, sejam elas entéricas ou não. (CAMPOS & TRABULSI, 2002; ROCHA, 2008).

A parede celular das bactérias gram-negativas tem uma particularidade que é a presença de um polissacarídeo (LPS) ancorado na parede bacteriana, ainda possui o polissacarídeo (antígeno somático “O”) e lipídeo A (BARCELOS, 2005; MAGALHÃES et al., 2007). Alguns membros da família Enterobacteriaceae, na sua multiplicação ou na morte bacteriana, liberam da porção do Lipídeo A, uma endotoxina que estimula a ação de mediadores da inflamação (citocinas e fator de necrose tumoral\_TNF) pelos macrófagos, causando o choque séptico (BARCELOS, 2005; BERCHIERI A; SANTOS H; LOVATO M, 2000).

O antígeno “H”, proteico, é desnaturado a 100°C. Apesar de sua função não ser completamente conhecida, está relacionado a alguns isolados patogênicos. (BARCELOS, 2005; BERCHIERI A; SANTOS H; LOVATO M, 2000).

O antígeno capsular “K” contendo polissacarídeos e proteínas também é inativado à temperaturas iguais ou superiores a 100°C. A cápsula atua inibindo a ativação do complemento e a opsonização bacteriana, o que confere proteção das bactérias no hospedeiro (BARCELOS, 2005; BERCHIERI A; SANTOS H; LOVATO M, 2000).

A fimbrias “F” são proteínas antigênicas e hemaglutinantes que recobrem toda superfície da bactéria e tem como função a adesão e reconhecimento dos receptores no tecido do hospedeiro. Podem ser classificadas em dois grandes grupos: manose resistente que hemaglutinam na presença de carboidrato e manose sensível onde, na presença de carboidrato, ocorre a inibição da hemaglutinação (BARCELOS, 2005; BERCHIERI A; SANTOS H; LOVATO M, 2000).

Outros fatores de virulência presentes nos isolados de *E. coli* são as colicinas, enterotoxinas, citocinas e sideróforos, substâncias que garantem a sua sobrevivência no hospedeiro. As colicinas, por exemplo, inibem o crescimento de diversas bactérias presentes na microbiota. As *E. coli* ainda possuem a habilidade de se multiplicarem em meios com restrição de ferro, adquirindo-o através de exoproteínas, como os sideróforos, e hemolisinas, que possuem potencial hemolítico, importante fator de virulência para isolados de infecções do

trato genito-urinário (BERCHIERI A; SANTOS H; LOVATO M, 2000; CAMPOS; FRANZOLIN; TRABULSI, 2004).

Outro mecanismo que garante potencial patogênico à determinados isolados é a troca de material genético. O ganho de genes patogênicos pode ocorrer pela transmissão entre diferentes espécies e pela mesma espécie através da transmissão horizontal e ou mutação. Pode ocorrer ativação e transferência de genes do cromossomo bacteriano presentes nas ilhas de patogenicidade (PAIs - Pathogenicity Islands) por transposons, mas também ocorre a troca de material genético extracromossômico através de plasmídios que pode possibilitar a codificação de proteínas facilitando a penetração, adesão e invasão de hospedeiros (BARCELOS, 2005; BERCHIERI A; SANTOS H; LOVATO M, 2000; CAMPOS; FRANZOLIN; TRABULSI, 2004). Essas trocas fazem que a *E. coli* tenha uma alta variabilidade genômica, contribuindo para o aparecimento de resistência antimicrobiana (RASKKO et al. 2008).

## 2.1 Patotipos

As bactérias *E. coli* podem ser divididas em grupos, os patotipos, que são definidos pelos mecanismos de patogenicidade, locais de infecção e de seus mecanismos de virulência. As que geram sintomas intestinais em seres humanos e animais, são conhecidas como *E.coli* diarreiogênica e podem ser subclassificadas em EPEC (*E. coli* enteropatogênica), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), EHEC (*E. coli* enterohemorrágica), EAEC (*E. coli* enteroagregativa) EIEC (*E. coli* enteroinvasora), UPEC (*E. coli* uropatogênica), NMEC (*E. coli* meningite neonatal), REDEC (*E. coli* enteropatogênica para coelhos) e APEC (*E. coli* patogênica aviária) (CROXEN; FINLAY, 2010; SAVIOLLI, 2010).

Outra classificação semelhante, descrita por BOURÉLY et al. (2021) e TRUGNG et al. (2005), relata 5 patotipos de *E. coli* associados à diarreia em bezerras: NTEC (*E. coli* necrotoxigênica), STEC (*E. coli* produtora de toxina Shiga), EAEC (*E. coli* enteroagregativa) e DAEC (*E. coli* de aderência difusa) que também já foi descrito em seres humanos (BOURÉLY et al., 2021; NGUYEN et al., 2005).

As *E. coli* podem ser separadas em filogrupos genéticos (A, B1, B2, C, D, E, F e G). Dentro dos filogrupos, o A e o B1 são considerados comensais e os B2 e C, normalmente, considerados patogênicos (CLERMONT ET AL, 2013; ARAIS et al 2015; CLERMONT et al., 2019; VEGA-MANRIQUEZ et al 2020; KARAHUTOVÁ et al 2021).

## 2.2 Resistência da *E. coli* aos Antibióticos

O surgimento dos mecanismos de resistência nas bactérias é esperado e acontece ao acaso, mas pode ser acelerado devido à pressão do meio, como na presença de antibióticos. Um fator que facilita essa evolução é o tempo de multiplicação bacteriana, que pode ocorrer em aproximadamente 15 a 20 minutos, um período curto de geração, o que amplia a capacidade de adaptação ao meio ambiente (RASKO et al., 2008; SANTANA et al., 2012).

Damos o nome de bactérias resistentes, quando as testamos *in vitro* e a Concentração inibitória mínima (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) são superiores à das utilizadas *in vivo* e sensíveis, quando a Concentração inibitória mínima (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) são iguais ou inferior às utilizadas *in vivo*. Bactérias multirresistente são definidas quando apresentam resistência a pelo menos um agente antimicrobiano pertencente a pelo menos 3 classes diferentes (CLSI, 2017 e CLSI, 2020, SANTURIO, 2011).

A resistência antimicrobiana (RAM) pode ser dividida em **resistência intrínseca**, aquela relacionada à herança genética ou às características fenotípicas naturais das bactérias e **resistência adquirida**, aquela que ocorre quando um gênero ou espécie bacteriana que, anteriormente, era sensível a determinado antimicrobiano passa a ser resistente, diferente da bactéria progenitora. Essa alteração pode ser decorrente de alterações genéticas cromossomal ou extracromossomal e pode proporcionar o aumento da população que possui essa característica (MENEZES et al., 2009; SANTANA et al., 2012).

Atualmente são conhecidos diversos mecanismos de resistência antimicrobiana de isolados de enterobactérias (MONTEIRO, 2011; POMBO, 2010). Um deles é a presença das  $\beta$ -lactamases que são as enzimas mais frequentes encontradas em bactérias gram-negativas patogênicas resistentes e

que inibem os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, através da hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico. Essas enzimas formam um complexo mecanismo de resistência aos antimicrobianos, que envolve, por exemplo, a permeabilidade da membrana celular externa, o tipo e a quantidade de  $\beta$ -lactamase envolvida. (BUSH; JACOBY, 2010; SILVA; LINCOPAN, 2012).

Conhecidas desde 1960, essas enzimas podem ser classificadas de acordo com a sua estrutura química em,  $\beta$ -lactamase de espectro estendido (ESBL), *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC),  $\beta$ -lactamase classe C (AMPc) e metalo- $\beta$ -lactamase (MBL) (BUSH; JACOBY, 2010; SILVA; LINCOPAN, 2012). A diversidade enzimática começou a ser evidenciada, em 1973, por Richmond & Sykes através do perfil do substrato enzimático (AMBLER, 1980; CLERMONT, 2013). A partir de então, diversas outras classificações foram realizadas baseadas nas funções bioquímicas, funcionais ou pela localização do gene (AMBLER, 1980; BUSH; JACOBY, 2010; SILVA; LINCOPAN, 2012; CANTON et al., 2012).

Outro mecanismo encontrado é a diminuição da permeabilidade da parede celular pela redução do número de porinas ou do seu diâmetro (DARBY et al., 2023; MENEZES et al., 2009; SANTANA et al., 2012), o que limita o fluxo de antimicrobianos para dentro da célula bacteriana, esse mecanismo é relatado para as cefalosporinas, penicilinas e quinolonas (DARBY et al., 2023; MONTEIRO, 2011; POMBO, 2010).

Outros mecanismos de ação que envolvem a transferência horizontal de material genético, como os presentes em plasmídeos, ou por mutações intrínsecas do próprio genoma bacteriano são a presença de bombas de efluxo que expulsam o antibiótico para o meio extracelular impedindo sua função; as modificações dos sítios dos receptores celulares que diminuem a afinidade ou bloqueiam os antireceptores diminuindo ou inativando a ação dos antibióticos (DARBY et al., 2023; MONTEIRO, 2011; POMBO, 2010). Esse mecanismo pode ser encontrado em isolados de *E. coli*.

Mutações ainda podem alterar as enzimas topoisomerases e o DNA (Ácido Desoxirribonucleico) girases, que ao sofrerem mudanças nas sequências de aminoácidos formam uma proteína diferente e com isso ocorre alteração do sítio de ligação, mudando a afinidade do fármaco ao seu sítio que evita a sua ação bactericida. A primeira proteína específica descrita que provoca essa mudança foi a QnrA, um pentapeptídeo, que quando se liga a enzima DNA girase e topoisomerase, forma o complexo QnrA- topoisomerase que impede a formação topoisomerase/DNA girase/Quinolonas que possui ação antibacteriana, aumentando a resistência (DARBY et al., 2023; MONTEIRO, 2011; POMBO, 2010).

Outras enzimas de grande importância são as enzimas aac (6')-Ib e aac (6')-Ib-cr que alteram o anel piperazinil das quinolonas e modificam o alvo dos aminoglicosídeos. Elas são descritas, desde 1986, em isolados de *Klebsiella pneumoniae* e, desde então, encontradas relatadas em outros gêneros das Enterobactereacea e descritas em *E. coli* (KIM et al., 2011; VAKULENKO; MOBASHERY, 2003)

### **2.3 Família Multi Espécie**

Desde sua domesticação, os animais fazem parte da história humana. A aproximação entre espécies gerou relações produtivas, protetivas e afetivas, traduzidas em conforto emocional, companhia, proteção, alimento, e renda obtida pela venda comercial de filhotes, adestramento de animais, creches para animais, *dog walker* e empregos como babás. (LOCKE et al 2015; MADELLA-OLIVEIRA et al., 2011 CANATTO et al., 2012; REICHMANN, 2000).

Nessas últimas décadas, principalmente no ocidente, devido a diversas razões, os animais de companhia estão assumindo uma função importante dentro das famílias humanas, essa inclusão dos animais como membros da família gerou a necessidade da criação do termo família multiespécie (MADELLA-OLIVEIRA et al., 2011; REICHMANN, 2000).

Por outro lado, trabalhos discutem que essa aproximação propicia uma maior oportunidade de transmissão de agentes zoonóticos e provoca aumento

de cães em situação de rua, acidentes de trânsito com fatalidade de seres humanos e animais e mordeduras (CANATTO et al., 2012; GOUMENOU; SPANDIDOS; TSATSAKIS, 2020; MADELLA-OLIVEIRA et al., 2011; MORGAN et al., 2020; REICHMANN, 2000)

Trabalhos científicos têm demonstrado a presença de isolados de *E. coli* resistentes tanto em animais de companhia (CARVALHO et al., 2016) quando em humanos (GRABE, 2015), em infecções do trato urinário (ITU). Arais et al. (2018) sugerem que alguns isolados de *E. coli* podem ser compartilhados entre humanos e cães, pois verificaram que isolados de mesmo sorotipo, provenientes desses hospedeiros, possuem os mesmos genes de virulência e são filogeneticamente próximos. Carvalho et al. (2016b) demonstraram que animais e tutores podem compartilhar isolados de *E. coli* com padrão de resistência semelhantes, incluindo as *E.coli*-ESBL. Melo et al. (2018) estudaram a presença de *E. coli*\_ESBLs/pAmp em amostras provenientes de cães em situação de rua e doentes, provenientes de um Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) e de um Hospital Veterinário da cidade de São Paulo, respectivamente. Os autores encontraram isolados com perfil de bactérias multiresistentes nos dois grupos, com uma alta frequência em ESBLs/pAmpC e sugerem que poderia haver contaminação ambiental e transmissão para outros hospedeiros.

Esses estudos indicam a necessidade de monitoramento de isolados de enterobactérias, entre elas, a *E. coli* para padrões de resistência aos antimicrobianos (RAM), incluindo as ESBL.

#### **2.4 Programa de Controle Reprodutivo de cães e gatos**

As campanhas de esterilização cirúrgica de cães e gatos assumiram uma grande importância no país e, atualmente, diversas cidades contam com políticas públicas voltadas para a sua realização a preço social. Isso é decorrente da superpopulação observada e das falhas na guarda responsável. A Prefeitura de São Paulo (PMSP), pela Lei Municipal nº 13.131/2001, oferece o serviço de esterilização cirúrgica de cães e gatos desde 2011 e já castrou mais de 1.400.000 animais em áreas de maior exclusão social (PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2023).

Por abranger áreas de difícil acesso e com um número grande de animais, trabalhos estão sendo realizados no rastreamento de doenças e patógenos com potencial zoonótico como Ciuffa et al. (2016) que a utilizaram para detecção de anticorpos anti-leptospiras em Minas Gerais, enquanto Lima et al., (2009) realizaram um levantamento coparasitológico no município de Botucatu, SP.

### **3. JUSTIFICATIVA**

Devido ao crescimento populacional e a estreita relação entre animais de estimação e tutores, nas famílias multiespécies aumenta-se o risco de transmissão de bactérias resistentes. Por isso, o monitoramento de *E. coli*-ESBL em cães e gatos pode servir de fonte de informação para o manejo futuro desses animais e diminuição da ocorrência dessas bactérias nessas espécies.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo Geral

Monitorar a ocorrência de *E. coli*-ESBL provenientes da microbiota intestinal de cães e gatos atendidos pela campanha de castração da região sul do município de São Paulo.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Isolar *E. coli*. de cães e gatos
- Identificar colônias de *E. coli* por espectrometria de Massa por ionização com dessorção à laser assistido por matriz e analisador de tempo de voo (MALDI-TOF MS).
- Verificar a presença de isolados com o perfil beta-lactamase de espectro estendido por CHROMAGAR ESBL (Plastlabor®).
- Verificar a presença do gene *bla CTX-M* nos isolados com o perfil beta-lactamase de espectro estendido por PCR.
- Caracterizar com método fenotípico os isolados de beta-lactamase de espectro estendido por disco difusão (“Double-Disk Screening”).

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Caracterização da amostragem

Foi realizada uma amostragem de conveniência de 72 animais, cães e gatos, atendidos pela campanha de castração na região sul do município de São Paulo, subsidiada pela Prefeitura Municipal.

O material fecal foi colhido através de *swab* estéril da ampola retal, armazenado no meio de Stuart e colocado a 4°C até o momento do isolamento. Antes da colheita, os tutores convidados a participar assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

O trabalho foi submetido à Comissão de Ética em Uso Animal e recebeu parecer favorável (UNISA 19/22).

### 5.2 Locais de Colheita

Os locais de colheita dos *swabs* retais foram atrelados as Campanhas de Castração que ocorreram pela Prefeitura do Município de São Paulo, nos anos de 2022 e 2023, no Jardim Santa Tereza e Ilha do Bororé no Distrito do Grajaú, no Jardim Amália no Capão Redondo (Fig 2) e Jardim Shangrilá (Fig 3).

O Jardim Santa Tereza (Fig 1) está localizado no parque natural municipal do Bororé, no distrito do Grajaú, e é conhecido como ilha do Bororé (Decreto Municipal nº 52.972/2012). Margeado pela represa Billins, 20 % da sua área útil é composta por área rural e 80% pela vegetação de Mata Atlântica com presença de biodiversidade e corredores ecológicos, mas sofre pressão antrópica (CANATTO et al., 2012; GUTJAHR, 2013; MARTINS, 2005, PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2022).

**Figura 1** - Localização do Jardim Santa Tereza, zona Sul do município de São Paulo.



Fonte: (Google Maps, 2024)

O Jardim Shangrilá (Figura 2) também fica no distrito de Grajaú próximo à Ilha do Bororé, mas são separados por um braço da represa Billings. O local é mais urbanizado quando comparado ao Jardim Santa Tereza e é margeado pelo Parque Residencial Cocaia, Jardim Eliana, Monte verde, Cantinho do Céu e Jardim das Gaivotas. Apresenta uma mistura de problemas rurais e urbanos. Possui alta densidade populacional humana e animal, além de falhas no sistema de saneamento básico (GUTJAHR, 2013; KATE, 2009; BOLETIM ISA, 2015; PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2023).

**Figura 2** - Localização do Jardim Shangrilá, zona Sul do município de São Paulo.



Fonte: (Google Maps, 2024)

O Jardim Amália (Fig 3) fica no distrito do Campo Limpo, no bairro do Capão Redondo. Foi criado em 1915 e era utilizado nos finais de semana para pesca, caça e passeio a cavalo. Atualmente, faz divisa com bairros mais centrais da zona sul como Vila Andrade, Paraisópolis e Morumbi, é próximo a represa da Guarapiranga (CANATTO et al., 2012; GUTJAHR, 2013; KATE, 2009; BOLETIM ISA, 2015; PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2023). É o bairro mais populoso do distrito do Campo Limpo com 700.000 habitantes, apresenta 100% de área urbana e problemas quanto ao acesso à saneamento básico (CANATTO et al., 2012; GUTJAHR, 2013; KATE, 2009; BOLETIM ISA, 2015; PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2023).

**Figura 3** - Localização do Jardim Amália, zona Sul do município de São Paulo.



Fonte: (Google Maps, 2024)

### **5.3 Isolamento bacteriano**

A partir do *swab* retal, foi realizado o esgotamento da amostra de fezes em meio seletivo de ágar MacConkey (Himedia) 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 armazenadas em ágar triptona de soja (TSA 1%) e estocadas em temperatura ambiente.

### **5.4 Identificação das colônias**

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

### **5.5 Teste de triagem para isolados de de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL).**

Para a triagem de amostras *E. coli* ESBL foi utilizada a placa cromogênica CHROMAGAR ESBL (Plastlabor®) que utiliza um meio seletivo para seleção e detecção de bactérias gram negativas produtoras de ESBL.

Foi retirada uma alçada o TSA 1% e realizado o esgotamento nas placas cromogênicas. Em paralelo, foi semeado em placa de ágar sangue (base BHI Kasvi, acrescido de 5% de sangue desfibrinado) para verificar crescimento. Na presença de alteração de cor do meio para avermelhado, os isolados foram separados para detecção de genes codificador da enzima CTX-M pela PCR (figura 6) e para o teste de aproximação de discos (figura 5).

### **5.6 Caracterização fenotípica de isolados de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) por Teste aproximação dos discos (“Double-Disk Screening”)**

Dos isolados triados pela placa cromogênica (figura 4), foi realizado o teste de aproximação dos discos para a triagem de *E. coli* com beta-lactamase de espectro estendido (BSL) (JARLIER et al. 1988). O método constituiu na

utilização da prova de disco de difusão de cefotaxima , cefepime, ceftazidima, e ceftriaxona com um disco central contendo um inibidor de  $\beta$ -lactamase (amoxicilina/ácido clavulânico). Os discos foram colocados a uma distância de aproximadamente 20 mm, em relação ao disco contendo o inibidor de  $\beta$ -lactamase. O teste foi considerado positivo quando foi observado a “*zona fantasma*” entre um dos discos externos e o central (amoxicilina/ácido clavulânico) (JARLIER et al, 1988).

### **5.7 Detecção genotípica para identificação de isolados de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL)**

Para a realização da PCR, as amostras triadas pela placa cromogênica foram semeadas em placas contendo ágar-sangue e mantidas na estufa a 37°C por 18-24h. Uma alçada das colônias foi transferida para um microtubo contendo 200  $\mu$ L de Tris-EDTA pH 7,4 (TE, 0,1M Tris, 0,01M EDTA). O microtubo foi levado ao termoaquecedor numa temperatura de 100°C por 20 minutos, submetido a um ciclo de congelamento/descongelamento e centrifugado por 5 minutos a 12000 x g. O sobrenadante foi utilizado para a realização da Reação em Cadeia pelo Polimerase utilizando *primers* direcionados ao gene bla<sub>CTX-M</sub> (BONNET et al, 2001). A PCR foi realizada com GoTaq®DNA Polimerase (Promega), utilizando-se 6,25  $\mu$ L de GoTaq®DNA Polimerase (Promega), 0,25  $\mu$ L de *primers* senso e anti-senso a 15  $\mu$ M, 4,5 mL de água ultra-pura e 1,25  $\mu$ L DNA. As condições de reação foram uma desnaturação inicial de 94°C por 5 min. e 29 ciclos de 94°C por 1 min, 56°C por 1min., 72°C por 1min. E extensão final de 72°C por 5 min. A leitura foi realizada após corrida de eletroforese em gel a 2% e corada com SYBR™ Safe DNA Gel Stain (Invitrogen).

### **5.8 Análise Estatística**

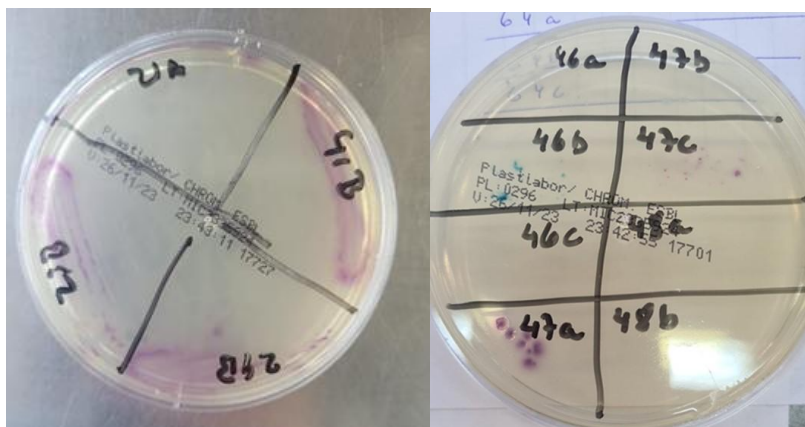
Para a análise dos dados foi utilizada estatística descritiva, com auxílio de planilha eletrônica utilizando o programa Microsoft Office 365 Excel.

## **6. RESULTADOS**

Foram obtidos 167 isolados de *E. coli*, sendo 132 proveniente de cães e 35 de felinos. Provenientes de 72 swabs retais de 59 cães e 13 felinos confirmados por MALDI-TOF MS. Dessas, 42% (71) das colônias foram provenientes do Jardim Sangrilá, 30,5% (51) do Jardim Santa Tereza, e 26,9% (45) do Jardim Amália.

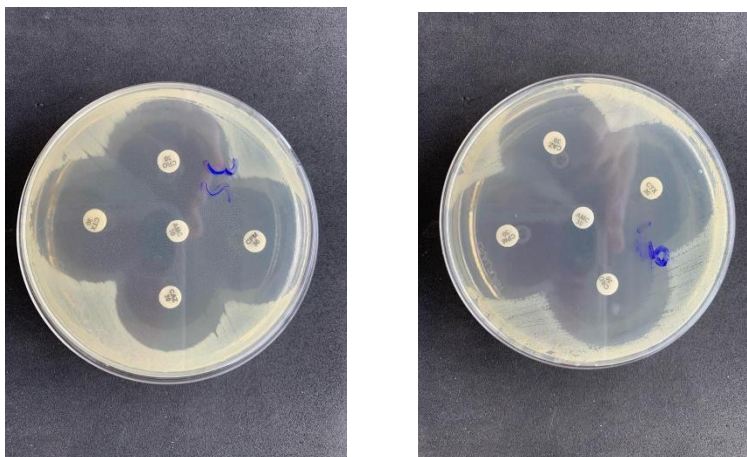
Após semeadura em placa cromogênica (Figura 4) CHROMAGAR ESBL (Plastlabor), 37 isolados foram triados para a confirmação por PCR (CTX-M) e por disco de difusão dupla. Após a realização das técnicas confirmatórias por disco difusão dupla (Figura 5) e PCR (Figura 6), não houve constatação de *E. coli* ESBL nos isolados triados.

**Figura 4-** Triagem através da placa cromogênica CHROMAGAR ESBL (Plastlabor) dos isolados de *E. coli* de cães e gatos provenientes do swab retal.



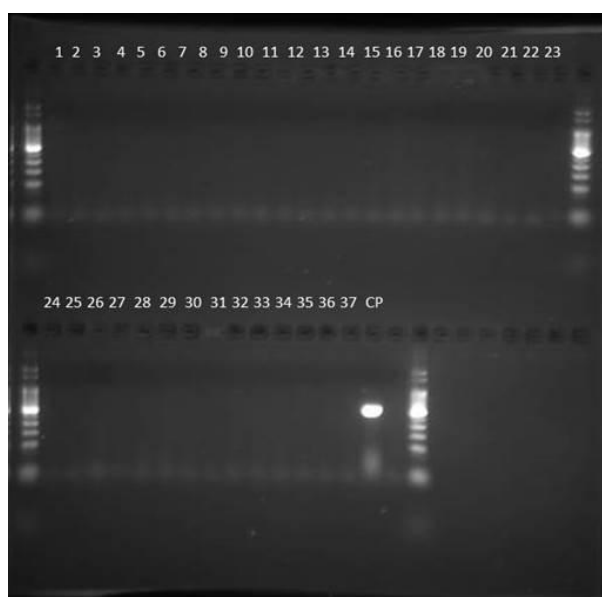
Fonte: Arquivo Pessoal

**Figura 5-** Caracterização fenotípica de isolados de *E. coli*-ESBL por Teste aproximação dos discos (“Double-Disk Screening”) dos isolados de *E. coli* de cães e gatos provenientes do swab retal triados pela placa cromogênica CHROMAGAR ESBL (Plastlabor).



Fonte: Arquivo Pessoal

**Figura 6-** Detecção do gene *bla*<sub>CTX-M</sub> para identificação de isolados de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) dos isolados de *E. coli* de cães e gatos provenientes do swab retal triados pela placa CHROMAGAR ESBL (Plastlabor). CP (controle positivo).



Fonte: Arquivo Pessoal

## 7. Discussão

A circulação de *E. coli* portadora do gene ESBL vem sendo descrita cada vez mais em cães e gatos no Brasil e no mundo. O monitoramento destas bactérias que anteriormente era de maior importância para aves de produção, e hoje nos preocupam com o aumento da prevalência em animais de companhia devemos monitorar em alta escala de maneira contínua para avaliarmos o risco (MELO et al. 2018).

O maior número de cães amostrados também foi registrado em outros trabalhos como em Melo et al. (2018) e na revisão sistemática conduzida por Salgado-Caxito (2021). Uma das hipóteses seria a maior dificuldade em manipular ou manter os gatos adequadamente domiciliados, a crença que gatos castrados não servem para o controle de roedores, da dificuldade de transportar e manter eles em espera para o procedimento na campanha com alto volume de animais ao mesmo tempo e do valor mais baixo das cirurgias de castração e facilidade na execução na técnica cirúrgicas quando comparados aos cães, o que restringiria o acesso aos serviços de saúde particular.

A diferença observada entre a triagem realizada com as placas cromogênicas e os testes confirmatórios foi devida, provavelmente, ao uso da amostra clínica ao invés de isolados além da baixa especificidade utilizada na leitura, onde se considerou qualquer mudança de cor como possível presença de *E. coli* – ESBL, independente da visualização clara de colônias.

Na América do Sul, estudos de detecção de *E. coli* – ESBL foram realizados em amostras de humanos saudáveis e doentes, animais, alimentos e meio ambiente e a maior ocorrência foi da enzima CTX-M (Bastidas-Caldes, 2022), por esse motivo, optou-se, nesse estudo, em procurar ser marcador genético por PCR.

Salgado-Caxito et al. (2021) realizaram um estudo de revisão sistemática e metanálise e estimaram a prevalência de ESBL-*E. coli* em cães em 6,87% (95% IC: 4,46–11,45%) e gatos em 5,04% (95% IC: 2,42–11,22%), considerando 8005 cães e 2263 gatos. Essas amostras foram provenientes de diversas espécies de clínicos e animais saudáveis e não houve diferença estatística na prevalência

entre essas duas espécies.

Apesar de nesse trabalho não ter sido possível a detecção de *E.coli* – ESBL, outros mencionam o encontro em cães saudáveis (CARVALHO et al. 2016, MELO et al. 2018, DOS SANTOS et al. 2021, RAMOS et al. 2022). Essa divergência pode ter sido ao acaso ou pode estar relacionada à alguma característica das regiões estudadas, como, por exemplo, a baixa pressão do uso de antibióticos devido ao menor acesso à atendimento veterinário, por serem áreas distantes e em situação de vulnerabilidade social, já que a maioria das amostras analisadas (122/167) foram dos Jardins Sangrilá e Santa Tereza.

Dados da Prefeitura Municipal de São Paulo de 2023, estimam que desde que o serviço de esterilização cirúrgica foi oferecido, mais de 1.400.000 de animais foram atendidos (PREFEITURA MUNICIPAL DE SÃO PAULO, 2023). Essa quantidade de animais manipulados nos traz um alerta pois, considerando a prevalência ao redor de 5 % de *E.coli*\_ESBL (SALGADO-CALXITO et al., 2021), pode existir a disseminação das bactérias multirresistente através da contaminação do meio ambiente pelas fezes, favorecendo a disseminação e transmissão interespecie (MELO et al, 2018), portanto ações de guarda responsável, como o recolhimento das fezes pelo tutor e destino adequado, são necessárias como forma de prevenir possível contaminação ambiental.

Outro ponto importante a ser ressaltado, é o reforço de procedimentos de boas práticas e o uso de equipamento de proteção individual (EPI), paramentação e treinamento para as equipes dos programas de controle populacional de animais, no intuito de proteger os profissionais, médicos veterinários, enfermeiros, estagiários, alunos, e os tutor de infecções por enterobactérias pelo contato direto, mediado por fômites ou pelo meio ambiente (MELO et al., 2018; SFACIOTTE et al., 2021)

## **8. CONCLUSÃO**

Nesse trabalho não foi possível a detecção de *E.coli*\_ESBL, mas esforços de monitoramento devem ser realizados de maneira contínua para que se possa estabelecer o risco que esses animais trazem para as famílias multiespecies e oferecer medidas de mitigação.

## REFERÊNCIAS

AIDARA-KANE, A. et al. World Health Organization (WHO) guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 7, n. 1, 17 jan. 2018.

AMBLER, R. P. The structure of beta-lactamases. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 289, n. 1036, p. 321–331, 1980.

ARAI, L. R. et al. Zoonotic potential of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (aEPEC) isolated from puppies with diarrhoea in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 227, p. 45–51, 1 dez. 2018.

ASSIS A.C.P SANTOS. BM. Patogenicidade In Vivo e In Vitro de Amostras de *Escherichia Coli* de Origem Aviária. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, 2001.

BANERJEE, A. et al. Multi-drug resistant, biofilm-producing high-risk clonal lineage of *Klebsiella* in companion and household animals. **Letters in Applied Microbiology**, v. 71, n. 6, p. 580–587, 1 dez. 2020.

BARCELOS, S. A. **AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA, HISTOPATOLÓGICA E BACTERIOLÓGICA DE FÍGADOS DE FRANGOS (*Gallus gallus*) CONDENADOS NO ABATE PELA INSPEÇÃO SANITÁRIA**. Prof. Dra. Maristela Lovato Flôres, 2005. Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2005.

BASSO, M. E. ET AL. Prevalência de infecções bacterianas em pacientes internados em uma unidade de terapia intensiva (UTI). **Rbac Revista brasileira de análises clínicas**, vol. 48, n.4, p.383-388, 2016.

BASTIDAS-CALDES. C, et al. Removal of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli*, ST98, in Water for Human Consumption by Black Ceramic Water Filters in Low-Income Ecuadorian Highlands. **Int J Environ Res Public Health**. Vol. 19, n. 8, p.4736, apr 14, 2022. DOI:10.3390/ijerph19084736

BATCHOUN, R. G.; SWEDAN, S. F.; SHURMAN, A. M. Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamases among Gram-Negative Bacterial Isolates from Clinical Specimens in Three Major Hospitals in Northern Jordan. **International Journal of Microbiology**, 2009. DOI:10.1155/2009/513874

BERCHIERI JR.A; SANTOS H; LOVATO M. **Doenças Das Aves - Angelo Berchieri JR – 2ª Edição**. 2ª ed, 2000.

BOLETIM ISA Capital 2015, nº8,217: **Cão e gatos no município de São Paulo:Imunização, esterilização e convivência com humanos**. São Paulo: CEinfo, 2017, p.29 Disponível em:

<[http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/saude/arquivos/publicacoes/ISA\\_2015\\_CG.pdf](http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/saude/arquivos/publicacoes/ISA_2015_CG.pdf)>.

BONNET, R., De Champs C., Sirot J. Novel cefotaximase (CTX-M-16) with increased catalytic efficiency due to substitution. **Antimicrob Agents Chemother.** v.45, n.8, p.2269-2275. 2001.

BORMAN, E. K.; STUART, C. A.; WHEELER, K. M. TAXONOMY OF THE FAMILY ENTEROBACTERIACEAE. **J Bacteriol.** Vol. 48, n. 3, p. 351-367. Sep, 1944. DOI:10.1128/jb.48.3.351-367.1944. PMID: 16560842; PMCID: PMC373980.

BOURÉLY, C. et al. Trends in antimicrobial resistance among *Escherichia coli* from defined infections in humans and animals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 75, n. 6, p. 1525–1529, 2021.

BRADFORD, P. A. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Clinical Microbiology Reviews**, vol. 14, n.4, p.933-951, 2001. DOI:10.1128/CMR.14.4.933-951.2001

BUSH, K.; JACOBY, G. A, Updated functional classification of beta-lactamases. **Antimicrob Agents Chemother.** Mar; vol. 54, n.3, p.969-976, 2010. DOI: 10.1128/AAC.01009-09. Epub 2009 Dec 7. PMID: 19995920; PMCID: PMC2825993.

CAMPOS, L. C.; FRANZOLIN, M. R.; TRABULSI, L. R. **Diarrheogenic *Escherichia coli* Categories among the Traditional Enteropathogenic *E. coli* O Serogroups - A Review.** Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 99,n. 6, 545–552. Rio de Janeiro. 2004 <https://doi:10.1590/s0074-02762004000600001>

CANATTO, B. D et al. Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados do município de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1515-1523, 2012. Tradução. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000600017>. Acesso em: 16 jan. 2024.

CANTON, R et al. Rapid Evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect*, vol.18, n. 5, p. 413-431, may 2012.

CLÍMACO, Eduardo Carneiro. **Análise molecular de mecanismos determinantes de resistência a antibióticos em *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter ssp.*** 2011. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011. DOI:10.11606/T.60.2011.tde-20102011-151623. Acesso em: 2024-01-17.

CARVALHO, A.C. et al. Resistance patterns, ESBL genes, and genetic relatedness of *Escherichia coli* from dogs and owners, **Brazilian Journal of Microbiology**, vol. 47, n. 1, p. 150-158, 2016.  
<https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.005>.

CARVALHO, V. M. et al. Infecções do trato urinário (ITU) de cães e gatos: etiologia e resistência aos antimicrobianos 1. **Pesq. Vet. Bras.** Vol. 34, n.1, p. 62-70, jan, 2014.

CHEN, C. M. et al. Colonization dynamics of *Klebsiella pneumoniae* in the pet animals and human owners in a single household. **Veterinary Microbiology**, v. 256, 2021. Disponível em: <https://doi: 10.1016/j.vetmic.2021.109050>. E pub 2021 Mar 23. PMID: 33799228.

CIUFFAA. Z.; SANTOSL. S.; FUJIMOTOT. A. S.; GOMESD. O.; REZENDEL. M.; PIRESB. C.; SILVAD. M.; LIMAA. M. C. Anticorpos Antileptospira spp. em cães destinados à castração eletiva. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. v. 14, n. 2, n. 29 agosto, p. 91–91, 29 ago. 2016. Disponível em: <https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/view/32150/35737>  
acesso em: 15/01/2024

CLERMONT ET AL, J. K. C. E. D. D. M. G. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. **Environmental Microbiology Reports**, v. 5, n. 1, p. 58–65, 2013.

CLERMONT, O. et al. Characterization and rapid identification of phylogroup G in *Escherichia coli*, a lineage with high virulence and antibiotic resistance potential. **Environmental Microbiology**, v. 21, n. 8, p. 3107–3117, 2019.

CLSI- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2017) Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. , **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 12th Edition Wayne, PA. 2017.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, CLSI supplement M100. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 30th ed, Wayne, PA, 2020.

COURA, F. M ; LAGE, A. P; HEINEMANN, M.B. Patotipos de *Escherichia coli* causadores de diarreia em bezerros: uma atualização. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 811-818, 2014 Tradução. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000900001>. Acesso em: 16 jan. 2024.

CROXEN, M. A.; FINLAY, B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nature Reviews Microbiology**, jan. 2010; vol. 8, n.1, p.26-38. Disponível em <https://doi: 10.1038/nrmicro2265>. Erratum in: **Nature Reviews Microbiology**. Feb, 2013; vol.11, n.2, p.141. PMID: 19966814.

DARBY, E. M. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. **Nature Reviews Microbiology**. May, 2023; vol.21, n. 5, P. 280-295. Disponível

em: [https://doi: 10.1038/s41579-022-00820-y](https://doi.org/10.1038/s41579-022-00820-y). Epub 2022 Nov 21. PMID: 36411397.

DA SILVA, B A, et al. Characterization of ESBL/AmpC-producing extraintestinal *Escherichia coli* (ExPEC) in dogs treated at a veterinary hospital in Brazil, **Research in Veterinary Science**, vol. 166, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2023.105106>.

DOS SANTOS, J. P. et al. Antimicrobial resistance profile of extended-spectrum beta-lactamases, adenosine-monophosphate-cyclic, and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria isolated from domestic animals. **Veterinary World**, v. 14, n. 12, p. 3099–3104, 1 dez. 2021. Disponível em: [https:// doi: 10.14202/vetworld.2021.3099-3104](https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.3099-3104). Epub 2021 Dec 13. PMID: 35153398; PMCID: PMC8829397.

FERREIRA, A.J.P.; KNÖBL, T. **Colibacilose**. In: **BERCHIERI JUNIOR, A.; SILVA, E.N.; Di FABIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M.A.F.** (Ed.). *Doença das aves* 2ed. Campinas: FACTA, p. 457-471. 2009

GOUMENOU, M.; SPANDIDOS, D. A.; TSATSAKIS, A. Possibility of transmission through dogs being a contributing factor to the extreme Covid-19 outbreak in North Italy. **Molecular Medicine Reports**. Jun, 2020; vol.21, n. 6, p.2293-2295. Disponível em: [https:// doi: 10.3892/mmr.2020.11037](https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11037). Epub 2020 Mar 23. PMID: 32236594; PMCID: PMC7185154.

GRABE M, B. et al. Guidelines on urological infections. EAU Guidelines. **Presented at the 26th EAU Annual Congress, Vienna** [s.l: s.n.] **Jan 1, 2013** Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/284761422>>.

GUPTA, N. et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America** vol. 53, n.1, p. 60-67, jul, 2011. Disponível em: [https:// doi:10.1093/cid/cir202](https://doi.org/10.1093/cid/cir202).

GUTJAHR, M. **Estudo do impacto da esterilização cirúrgica no controle populacional canino por distrito administrativo no município de São Paulo, SP. 2013**. Orientador Fernando Ferreira. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-07072014-105411/>. Acesso em: 16 jan. 2024.

HARADA, K. et al. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Klebsiella* spp. isolates from companion animals in Japan: Clonal dissemination of multidrug-resistant extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *klebsiella pneumoniae*. **Frontiers in Microbiology**, v. 29, n.7, p.1021, JUN, 2016. Disponível em: [http:// doi: 10.3389/fmicb.2016.01021](http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01021). PMID: 27446056; PMCID: PMC4925667.

JANDA, JM; ABBOTT, SL. The Changing Face of the Family Enterobacteriaceae (Order: "Enterobacterales"): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes. **Clinic Microbiol Reviews**, v. 34, n. 2, p. 174–1, fev 2021 Disponível em: <http://doi:10.1128/CMR.00174-20>. PMID: 33627443; PMCID: PMC8262773.

JARLIER, V; NICOLAS, M.-H; FOURNIER, G. Extended Broad-Spectrum  $\beta$ -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer  $\beta$ -Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns. **Clinical Infectious Diseases**, v. 10, n. 4, p. 867- 878, 1988. Disponível em: <http://doi:10.1093/clinids/10.4.867>. PMID: 3263690.

KATE G. **Programa Permanente de Controle Reprodutivo de Cães e Gatos Relacionando o Impacto na Sociedade**. Orientador Carlos Augusto Donini. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade metropolitana Unidas Arquivo FMU, São Paulo, SP 2009. Disponível em: <https://arquivo.fmu.br/prodisc/medvet/kg>

KARAHUTOVÁ, L.; MANDELÍK, R.; BUJŇÁKOVÁ, D. Antibiotic resistant and biofilm-associated escherichia coli isolates from diarrheic and healthy dogs. **Microorganisms**, v. 9, n. 6, 1 jun. 2021.

KIM, Y. T. et al. Identification of strain harboring both aac(6')-Ib and aac(6')-Ib-cr variant simultaneously in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. **BMB Reports**, v. 44, n. 4, p. 262–266, abr. 2011.

LIMA, A. F.; SchmidtE. M.; DiasR. G. Avaliação parasitológica de cães castrados em projeto de controle populacional no Município de Botucatu (SP). **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 9, n. 2, p. 28-29, 2009.

LOCKE, P; MUENSTER, U. Multispecies Ethnography. obo in Anthropology. **Entry for Oxford University Bibliographies Online**, epub 30 nov 2015 DOI: 10.1093/obo/9780199766567-0130

MADELLA, O , A. et al. O processo de domesticação no comportamento dos animais de produção. **Pubvet**, v. 5, n. 31, ago. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.22256/pubvet.v5n31.1204>

MARTINS, B. A.; CASTANHEIRA, G. **MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS** Orientadora: prof. Doutora Maria João Simões Universidade Lusófona de humanidades e tecnologias faculdade ciências e tecnologias da saúde, Lisboa 2013.

Disponível em : <https://recil.ensinolusofona.pt/bitstream/10437/4632/1/Monografia%20Mecanismos%20de%20Resistência%20a%20Antibióticos.pdf>

MARTINS, R,S **Geografia Humana dos Bairros de Colônia Paulista e Ilha do Bororé (Distritos de Parelheiros e Grajaú)** in MARTINS, Rodrigo “APA

BORORÉ: Subsídios à implantação – Praticando Geografia com a Teoria do Geossistemas” São Paulo: FFLCH-USP, 2003.biblioteca digital da usp, 2005. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/343758700\\_Geografia\\_Humana\\_dos\\_Bairros\\_de\\_Colonia\\_Paulista\\_e\\_Ilha\\_do\\_Borore\\_Distritos\\_de\\_Parelheiros\\_e\\_Grajau](https://www.researchgate.net/publication/343758700_Geografia_Humana_dos_Bairros_de_Colonia_Paulista_e_Ilha_do_Borore_Distritos_de_Parelheiros_e_Grajau).

MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. **Microbiology Spectrum**, ARBA-0009-2017, v. 6, n. 2, 6 abr. 2018. Disponível em: doi:10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017

MELO, L.C, et al. Prevalence and molecular feature of ESBL/pAmpc-producing. Enterobacteriaceae in healthy and diseased companion animals in Brazil. **Veterinary Microbiology**, vol. 221, s n, p.59-66, Jan, 2018.

MENEZES, K. et al. Avaliação da resistência da Escherichia coli frente a Ciprofloxacina em uroculturas de três laboratórios clínicos de Aracaju-SE / Escherichia coli: evaluation of its resistance by Ciprofloxacinin in urine culture of three clinical laboratories of Aracaju-SE. ARACAJU. **Revista brasileira de análises clínicas**, vol. 41, n. 3, p. 239-242, 2009.

MENEZES, R. A. et al. Uropathogens prevalence in public health laboratory Macapá - AP, 2009 - 2012. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 1, 2017. Disponível em: DOI:[10.21877/2448-3877.201600127](https://doi.org/10.21877/2448-3877.201600127)

MIRZAYEV, F. et al. World health organization recommendations on the treatment of drug-resistant tuberculosis, 2020 update. **European Respiratory Journal** European Respiratory Society, vol. 57, n. 6, 1 jun. 2021. Disponível em: doi:10.1183/13993003.03300-2020.

MONTEIRO, A,R,P. **Resistencia adquirida a quinolonas em enterobacteriaceae isoladas de suinoculturas portuguesas**. Orientadora: Prof. Doutora Elisabete Machado, Universiada Fernando Pessoa, Faucudade de ciências da saúde, Porto 2011  
Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/2270/3>.

MORGAN, L. et al. Human–dog relationships during the COVID-19 pandemic: booming dog adoption during social isolation. **Humanities and Social Sciences Communications**, v. 7, n. 1, p.155, 1 dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1057/s41599-020-00649-x>

NGUYEN, T. et al. et al. Detection and characterization of diarrheagenic Escherichia coli from young children in Hanoi, Vietnam. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 755–760, fev. 2005. DOI:10.1128/JCM.43.2.755-760.2005.

RAMOS, C.P. et al. Fecal Shedding of Multidrug Resistant Escherichia coli Isolates in Dogs Fed with Raw Meat-Based Diets in Brazil. **Antibiotics**, vol. 11, n. 4, p. 534. 2022 <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040534>

REICHMANN, M,L,A,B. **Manual Técnico do Instituto Pasteur 6 Controle de Populações de Animais de Estimação**. São Paulo; São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Pasteur; p. 44, 2000. Disponível em: [https://saude.sp.gov.br/resources/instituto-pasteur/pdf/manuais/manual\\_06](https://saude.sp.gov.br/resources/instituto-pasteur/pdf/manuais/manual_06).

PATEL, G. et al. Outcomes of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and the Impact of Antimicrobial and Adjunctive Therapies. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 29, n. 12, p. 1099–1106, 2008. DOI :10.1086/592412

PREFEITURA DE SÃO PAULO a. **Programa Permanente de Controle Reprodutivo de Cães e Gatos – PPCRCG** da Prefeitura Municipal de São Paulo oferecido à população desde 2001 (Lei Municipal nº 13.131/2001) [https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/saude\\_e\\_protecao\\_a\\_o\\_animal\\_domestico/index.php?p=272489](https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/saude_e_protecao_a_o_animal_domestico/index.php?p=272489) acessado 09:57 24/10/2023

PREFEITURA DE SÃO PAULO. **Dados demográficos dos distritos pertencentes às Subprefeituras** | Secretaria Municipal de Subprefeituras | Prefeitura da Cidade de São Paulo **Parque natural municipal bororé** | Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente | Prefeitura da Cidade de São Paulo. Decreto Municipal nº 52.972/2012 acessado as 14:00 do dia 04/08/2023

POMBO, D. J. Antimicrobial Resistance: Beyond the Breakpoint. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 9, p. 1505–1505, set. 2010. Disponível em: doi:10.3201/eid1609.100788. PMID: PMC3294994.

RAMOS PM, IANHEZ M, DE CASTRO S, TALHARI C, CRIADO PR & MIOT HA. 2022. Post-COVID-19 hair loss: prevalence and associated factors among 5,891 patients. **Int J Dermatol**, vol. 6, p.162-164, 2022

RANG H.P, et al. in RANG & DALE. *Farmacologia*. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 7 edição, p778, 2012.

RASKO, D. A. et al. Targeting QseC signaling and virulence for antibiotic development. **Science**, v. 321, n. 5892, p. 1078–1080, 22 ago. 2008. DOI:10.1126/science.1160354

SADER, H. S. et al. Antimicrobial Activity of Ceftazidime-Avibactam, Ceftolozane-Tazobactam and Comparators Tested against *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates from United States Medical Centers in 2016-2018. **Microbial Drug Resistance**, vol. 27, n. 3, p. 342-349, 1 mar. 2021. DOI:10.1089/mdr.2020.0217

SALGADO-CAXITO. M, et al. 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**. Published Mar 20, 2021.

DOI:10.1016/j.onehlt.2021.100236

SANTANA, T. C. F. S. DE et al. PERFIL DE RESISTÊNCIA DE *Escherichia coli* E *Klebsiella spp* ISOLADAS DE UROCULTURA DE COMUNIDADE DO MUNICÍPIO DE SÃO LUIS-MA NO PERÍODO DE 2005-2008. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n. 3, 22 out. 2012. DOI:10.1089/mdr.2020.0217

SANTOS, I. N. DOS et al. Isolamento social e seus impactos na saúde mental: Uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e22110817206, 11 jul. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17206>

SANTURIO D,F, et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, vol. 41, n. 6, p.1051–1056. Jun, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000067>

SAMPAIO. J,L,M; GALES A,C. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brazil: focus on  $\beta$ -lactams and polymyxins, **Brazilian Journal of Microbiology**, vol. 47, n. 1, p.31-37, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.002>.

SAVIOLLI, Juliana Yuri. **Pesquisa e Caracterização de *Escherichia coli* patogênica (*E.coli* produtora de toxina Shiga - STEC; *E.coli* aviária patogênica - APEC) de fragatas (*Fregata magnificens*) da Costa do Estado de São Paulo**. 2010. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. doi:10.11606/D.10.2010.tde-10082010-143759. Acesso em: 2024-01-16.

SELLERA, F. P. et al. Detection of IncN-pST15 one-health plasmid harbouring blaKPC-2 in a hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* CG258 isolated from an infected dog, Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 68, n. 6, p. 3083–3088, 1 nov. 2021. Doi:10.1111/tbed.14006

SELLERA, F. P.; DA SILVA, L. C. B. A.; LINCOPAN, N. Rapid spread of critical priority carbapenemase-producing pathogens in companion animals: A One Health challenge for a post-pandemic world. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 76, n. 9, p. 2225–2229, 1 set. 2021.

SILVA; LINCOPAN. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio *Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in Brazil: clinical impact and implications for agribusiness*. **Bras Patol Med Lab** • v. 48 • n. 2 • p. 91-99 • abril 2012 Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442012000200004>

SILVA; M.P; CAVALLI, D.R; OLIVEIRA, T,C,R,M . Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. *Food Science and Technology*,VOL.26, N.2, P.352359. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000200018>.

SOULI, M. et al. An outbreak of infection due to  $\beta$ -lactamase *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek university hospital: Molecular characterization, epidemiology, and outcomes. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 3, p. 364–373, 1 fev. 2010. DOI:10.1086/649865

SUNDSFJORD, A. Tema Antibióticos e resistência MEDICINA E CIÊNCIA Antibióticos para animais e resistência em bactérias de animais-importância para a saúde humana. **Saúde debate**. Vol. 44, n. 126, 20Jul-Sep 2020 Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-1104202012602>

SFACIOTTE, R.A.P, et al. Detection of the main multiresistant microorganisms in the environment of a teaching veterinary hospital in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol.4, 2021. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-6706

VAKULENKO, S. B.; MOBASHERY, S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. **Clinical Microbiology Reviews**, 1 jul. 2003. DOI:10.1128/CMR.16.3.430-450.2003

VEGA-MANRIQUEZ, X. D. et al. Pet dogs potential transmitters of pathogenic *Escherichia coli* with resistance to antimicrobials. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 5, p. 1173–1179, 1 jul. 2020.

WANNMACHER, L; Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida?. Uso Racional de medicamentos. **Biblioteca virtual em Saúde MS** Vol.1, n.4, Brasília, 2004 Disponível em: <<[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/rede\\_rm/2007/2\\_060807/opas\\_1\\_uso\\_indiscriminado.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/rede_rm/2007/2_060807/opas_1_uso_indiscriminado.pdf)>>. Acesso em: 15 set. 2023.