



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Julia Garcez Melo

**Bactérias Gram-negativas colonizadoras do trato gastrointestinal de animais domésticos  
e seus fenótipos de resistência aos beta-lactâmicos.**

Florianópolis

2023

Julia Garcez Melo

**Bactérias Gram-negativas colonizadoras do trato gastrointestinal de animais domésticos  
e seus fenótipos de resistência aos beta-lactâmicos.**

Projeto do Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Thaís Cristine Marques Sincero

Coorientador: Me. Mateus Rocha Ribas

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pela autora,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Garcez Melo, Julia  
Bactérias Gram-negativas colonizadoras do trato  
gastrointestinal de animais domésticos e seus fenótipos de  
resistência aos beta-lactâmicos. / Julia Garcez Melo ;  
orientadora, Thaís Cristine Marques Sincero, coorientador,  
Mateus Rocha Ribas, 2023.  
70 p.

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

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Animais de estimação. 3. Multidrogas  
resistente. 4. Saúde única. I. Cristine Marques Sincero, Thaís .  
II. Rocha Ribas, Mateus . III. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Graduação em Farmácia. IV. Título.

Julia Garcez Melo

**Bactérias Gram-negativas colonizadoras do trato gastrointestinal de animais domésticos  
e seus fenótipos de resistência aos beta-lactâmicos.**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de  
“Bacharel em Farmácia” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em  
Farmácia

Florianópolis, junho de 2023.

Prof<sup>ª</sup>.Dra. Liliete Canes de Souza  
Coordenadora do Curso

**Banca examinadora**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Thais Cristine Marques Sincero  
Orientadora

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marília Miotto  
Universidade Federal de Santa Catarina  
Avaliadora

Me. Gustavo Rocha  
Universidade Federal de Santa Catarina  
Avaliador

Florianópolis, 2023.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente aos meus pais, Ana e Ednilson, por sempre me incentivarem a ler e estudar e me proporcionarem as melhores oportunidades, vocês me ensinaram a sempre ser a minha melhor versão para o mundo.

Aos meus avós Antônio e Clarinda, que sempre estão presentes me dando o que é necessário para tornar essa trajetória mais fácil.

Ao meu padrinho, Marlon, por sempre estar do meu lado me dando os melhores exemplos de bondade. E à minha madrinha Juliana, por ter sido tão presente na minha infância e também agora, me dando conselhos e me trazendo boas lembranças.

Ao meu namorado Vinícius, por ter sido meu pilar nos momentos de desespero ao longo de toda a graduação, me fazendo sempre sorrir e ajudando nos momentos escuros da vida, você é a minha luz. Sua ajuda nesse trabalho foi sem dúvida essencial, não teria tido forças para conseguir todas as amostras sem você.

À minha amiga, Amanda, por ter sido meu apoio e minha dupla ao longo desses cinco anos, agradeço ao destino por ter colocado você no meu caminho me fazendo ver a vida de uma forma bem mais leve.

Às minhas amigas Ana Carolina, Julia, Catherine e Carolina, acho que eu não seria a pessoa que sou hoje sem vocês, que cada uma siga os seus sonhos e faça desse mundo um lugar cada vez melhor.

À professora Thaís, por ter aceitado ser minha orientadora e me ajudado imensamente na elaboração deste trabalho, me guiando com seus ensinamentos tanto nas aulas da graduação quanto no laboratório. Obrigada por me permitir fazer parte desse projeto, seu profissionalismo e paciência são exemplos que quero levar para a minha vida.

Aos meus amigos Gustavo, Mateus e Juliana, por terem me ajudado nessa pesquisa nas horas mais difíceis, me apoiando e ajudando principalmente nas partes práticas desse trabalho.

À professora Jussara, por ter aconselhado em vários pontos da pesquisa, sem sua ajuda esse trabalho não seria o mesmo.

À todos que fazem parte do laboratório MiMA, acho que sem vocês me auxiliando e aconselhando ao longo dessa jornada nada seria igual, obrigada pelas conversas de apoio e pela torcida.

## RESUMO

A resistência antimicrobiana é uma das maiores preocupações globais devido ao seu impacto na Saúde Única. Esse problema está relacionado com o uso inadequado de antimicrobianos tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária que vem selecionando bactérias resistentes, disseminando-as para o meio ambiente, animais e conseqüentemente aos humanos, não estando restrita somente ao âmbito hospitalar. O presente estudo objetivou identificar a presença de bactérias Gram-negativas produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) e carbapenamases em amostras de fezes de animais domésticos residentes na grande Florianópolis, Santa Catarina. Foram analisadas 100 amostras de fezes de animais domésticos provenientes de doação de seus tutores residentes na região, juntamente com seus respectivos formulários com informações dos animais. O processamento das amostras foi realizado utilizando o equivalente a uma alça de 10 µl de fezes, que foram enriquecidas em caldo tríptico de soja (TSB) e incubadas a 37°C por seis horas. Aliquotas provenientes do enriquecimento foram semeadas em tubos com TSB suplementado com cefotaxima 2 µg/mL e ertapenem 0,5 µg/mL, separadamente, e incubados a 37°C *overnight*. Em seguida, alíquotas de 10 µL foram semeadas em ágar MacConkey e incubadas a 37°C por 18-24 horas. Cada colônia morfológica distinta e identificada presuntivamente foi sub cultivada em ágar tríptico de soja (TSA), identificadas por Maldi-Tof e posteriormente repassadas para o ágar Muller-Hinton, conforme preconizado pelo BrCAST. A caracterização fenotípica ESBL foi realizada pelo método de disco-aproximação utilizando os antimicrobianos amoxicilina com ácido clavulânico, ceftriaxona, cefepime, ceftazidima e aztreonam. No teste de sensibilidade aos antimicrobianos também utilizou-se ertapenem, meropenem e imipenem, ciprofloxacino, tetraciclina, cefoxitina, gentamicina e amicacina. Para isolados que apresentaram resistência aos carbapenêmicos, o teste fenotípico para detecção de carbapenamases foi realizado pelo método colorimétrico Blue-Carba. Comparou-se, também, a população de isolados oriundos de animais cujos tutores trabalhavam em hospital, assim como aquelas que foram doadas da comunidade. Obteve-se o total de 32 isolados, em que 62,5% apresentaram fenótipo de resistência característico de ESBL (n=20), verificando-se a presença de halo fantasmas no teste de sensibilidade aos antimicrobianos e nenhum apresentou positividade no Blue-Carba. Destaca-se que, em seis isolados (18,7%), os tutores trabalham em área hospitalar em comparação com os demais. De forma geral, os isolados considerados *Enterobacterales* apresentaram uma alta taxa de resistência às cefalosporinas de 3º e 4º geração, com 88,0% (n=22) para ceftriaxona, 84,0% (n=21) para ceftazidima e 72,0% para cefepime (n=18). Os isolados também apresentaram 56,0% de resistência à ciprofloxacino (n=14), 44,0% para tetraciclina (n=11), 28,0% para cefoxitina (n=7), 28,0% para amicacina (n=7) e 28,0% para gentamicina (n=7). Além disso, 68,7% (n=22) dos isolados foram multidroga-resistentes sendo resistentes a três ou mais categorias segundo a classificação de Magiorakos. Portanto, esses resultados mostram que bactérias resistentes aos antimicrobianos vêm sendo encontradas em animais domésticos como colonizadoras mas não estão causando infecções, no entanto, essas bactérias podem eventualmente transmitir esses genes de resistência e causar problemas em outros sítios de infecção nesses animais e em humanos. Isso mostra um cenário preocupante, já que a maioria dos animais não tem histórico de uso de antimicrobianos nos últimos seis meses. Dessa forma, o monitoramento ambiental de bactérias resistentes é necessário para a prevenção e controle de doenças, já que nesse caso tanto a saúde animal quanto a humana podem estar sendo afetadas.

**Descritores:** Animais de estimação; Multidroga resistente; Saúde única.

## ABSTRACT

### **Gram-negative bacteria colonizing the gastrointestinal tract of domestic animals and their resistance phenotypes to beta-lactams**

Antimicrobial resistance is one of the biggest global concerns because of its impact on One Health. This problem is related to the inappropriate use of antimicrobials both in human medicine and in veterinary medicine that has been selecting resistant bacteria, spreading them to the environment, animals and consequently to humans, not being restricted only to the hospital environment. The present study aimed to identify the presence of Gram-negative bacteria that produce extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and carbapenemases in fecal samples from domestic animals residing in greater Florianópolis, Santa Catarina. 100 samples of feces of domestic animals donated by their guardians residing in the region were analyzed, along with their respective forms with information on the animals. The processing of the samples was performed using the equivalent of a 10 µl loop of feces, which were enriched in tryptic soy broth (TSB) and incubated at 37°C for six hours. Aliquots from the enrichment were seeded in tubes with TSB supplemented with 2 µg/mL cefotaxime and 0.5 µg/mL ertapenem, separately, and incubated at 37°C overnight. Then, 10 µL aliquots were plated on MacConkey agar and incubated at 37°C for 18-24 hours. Each morphologically distinct and presumptively identified colony was subcultured in tryptic soy agar (TSA), identified by Maldi-Tof and subsequently transferred to Muller-Hinton agar, as recommended by BrCAST. ESBL phenotypic characterization was performed by the disk-approximation method using the antimicrobials amoxicillin with clavulanic acid, ceftriaxone, cefepime, ceftazidime and aztreonam. In the antimicrobial susceptibility test, ertapenem, meropenem and imipenem, ciprofloxacin, tetracycline, ceftazidime, gentamicin and amikacin were also used. For isolates that showed resistance to carbapenems, the phenotypic test for detection of carbapenemases was performed using the Blue-Carba colorimetric method. The population of isolates from animals whose guardians worked in a hospital was also compared, as well as those that were donated from the community. A total of 32 isolates were obtained, in which 62.5% showed resistance phenotype characteristic of ESBL (n=20), verifying the presence of ghost halo in the antimicrobial susceptibility test and none showed positivity in Blue-Carba . It is noteworthy that, in six isolates (18.7%), the tutors work in a hospital area compared to the others. In general, the isolates considered *Enterobacterales* showed a high rate of resistance to 3rd and 4th generation cephalosporins, with 88.0% (n=22) for ceftriaxone, 84.0% (n=21) for ceftazidime and 72.0 % for cefepime (n=18). The isolates also showed 56.0% resistance to ciprofloxacin (n=14), 44.0% to tetracycline (n=11), 28.0% to ceftazidime (n=7), 28.0% to amikacin (n =7) and 28.0% for gentamicin (n=7). Furthermore, 68.7% (n=22) of the isolates were multidrug resistant, being resistant to three or more categories according to the Magiorakos classification. Therefore, these results show that antimicrobial resistant bacteria have been found in domestic animals as colonizers but are not causing infections, however, these bacteria can eventually transmit these resistance genes and cause problems in other sites of infection in these animals and in humans. This shows a worrying scenario, since most animals have no history of antimicrobial use in the last six months. Thus, environmental monitoring of resistant bacteria is necessary for the prevention and control of diseases, since in this case both animal and human health may be affected.

Keywords: Pets; Multidrug resistant; One health.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo de ação dos antibacterianos.....	5
Figura 2 - Mecanismo de transmissão de material genético pela bactéria.....	11
Figura 3 - Mecanismo, inibição e estruturas das transpeptidases PBP.....	12
Figura 4 - Representação da ação das beta-lactamases no anel beta-lactâmico.....	14
Figura 5 - Classificação das beta-lactamases.....	16
Figura 6 - Inter-relação entre a resistência bacteriana em animais, humanos e ambiente.....	19
Figura 7 - Fluxograma esquemático da metodologia realizada.....	24
Figura 8 - Representação esquemática da lâmina inserida no Vitek ® MS.....	25
Figura 9 - Representação do teste de disco-aproximação integrado ao Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA).....	26
Figura 10 - Interpretação do método colorimétrico Blue Carba.....	28
Figura 11 - Representação gráfica da quantidade de amostras <i>versus</i> a cidade de origem.....	31
Figura 12 - Representação gráfica das espécies bacterianas identificadas.....	35
Figura 13 - Representação esquemática das populações estudadas.....	44

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação comparada das beta-lactamases segundo Bush-Jacoby.....	16
Quadro 2 - Categoria dos antimicrobianos para <i>Enterobacteriales</i> .....	28
Quadro 3 - Número de animais por sexo e espécie.....	31
Quadro 4 - Análise dos isolados provenientes do animal e seu histórico.....	32
Quadro 5 - Resistências aos antimicrobianos dos isolados MDR.....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Prevalência de resistência aos antimicrobianos testados por espécies de <i>Enterobacterales</i> .....	36
--	----

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>4</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>7</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	7
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>8</b>
3.1 A RELAÇÃO ENTRE MICROBIOTA COMENSAL E BACTÉRIAS DE INTERESSE CLÍNICO.....	8
3.2 RESISTÊNCIA BACTERIANA.....	9
3.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS BETA LACTÂMICOS.....	11
3.4 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS BETA LACTÂMICOS.....	13
3.5 ANIMAIS DOMÉSTICOS E A DISSEMINAÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA.....	17
3.6 SAÚDE ÚNICA NO CONTEXTO DA MICROBIOLOGIA.....	19
<b>4. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>21</b>
<b>5. METODOLOGIA.....</b>	<b>22</b>
5.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	22
5.2 FICHA DO TUTOR.....	22
5.3 COLETA DAS AMOSTRAS E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	22
5.4 SELEÇÃO DOS ISOLADOS.....	25
5.4.1 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES BACTERIANAS.....	25
5.4.2 IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA DOS ISOLADOS.....	26
5.4.3 CLASSIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES.....	28
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
6.1 ANÁLISE DAS AMOSTRAS COLETADAS.....	30
6.2 ANÁLISE DOS ISOLADOS.....	32
<b>7. DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>
<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>59</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As bactérias que vivem no hospedeiro, chamadas de comensais, possuem uma interação dinâmica de benefícios ao mesmo. Elas podem ser classificadas em microbiota normal e transitória, encontradas colonizando o trato gastrointestinal. As espécies mais predominantemente encontradas são estafilococos, estreptococos e lactobacilos. Essa microbiota se modifica devido a vários fatores como dieta, idade, consumo de antimicrobianos, probióticos, fatores ambientais, herança da microbiota materna e interações entre microrganismos e hospedeiros (BOURLIOUX *et al.*, 2003; BARBOSA *et al.*, 2010).

Os animais, ao nascerem, passam a ser colonizados pelos microrganismos provindos da mãe e do ambiente onde se encontram. No entanto, alguns microrganismos são necessários para colonizar primeiramente os tecidos e criar um ambiente próprio para outras espécies, formando, posteriormente, uma comunidade de microrganismos no animal já adulto (GUARNER; MALAGELADA, 2003).

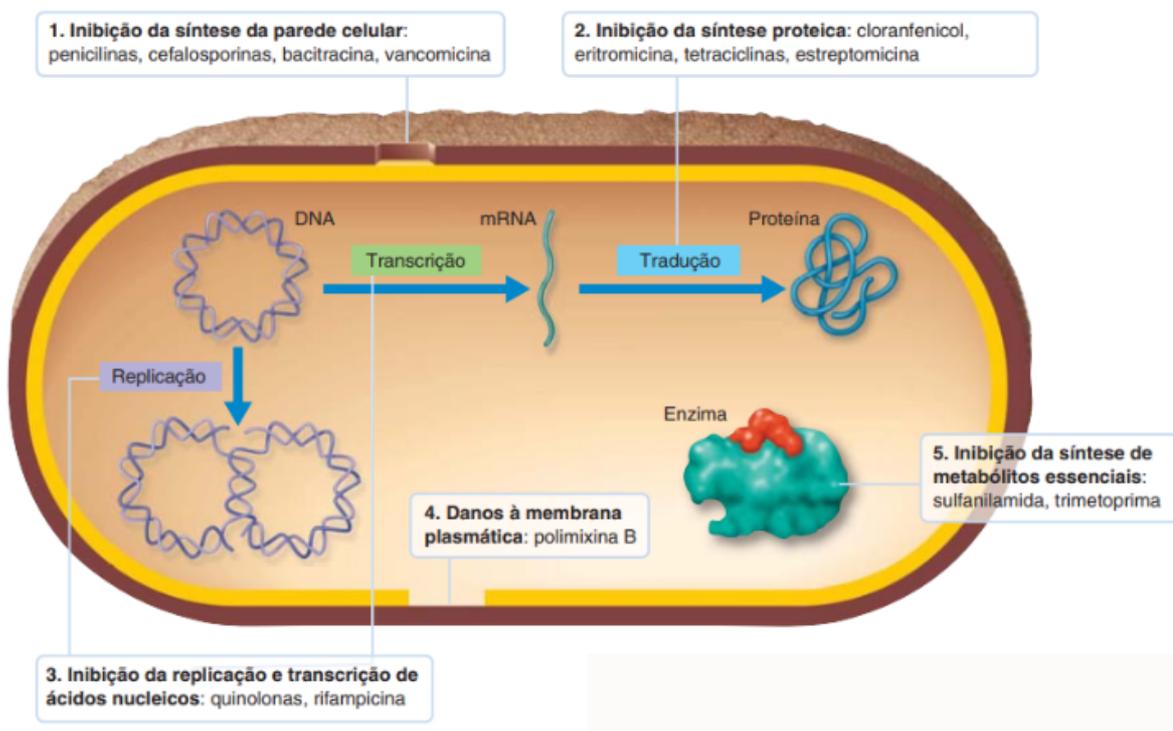
As espécies de bactérias não são distribuídas aleatoriamente no intestino, mas possuem regiões de colonização específicas dependendo do microambiente que se encontram (DUNNE, 2001; DE VOS *et al.*, 2022). No íleo, por exemplo, predominam espécies de bactérias Gram-negativas aeróbias facultativas como algumas *Enterobacterales* e Gram-positivas como lactobacilos e enterococos (DUNNE, 2001).

O uso de antimicrobianos para o tratamento de animais, também é um fator externo determinante na mudança do ambiente intestinal pois estes medicamentos acabam suprimindo bactérias patogênicas e da flora intestinal, modificando, assim, o perfil microbiológico dos microrganismos comensais. Essa mudança de microbiota está diretamente ligada ao uso incorreto, extensivo ou mesmo indicado desses medicamentos, exercendo uma pressão seletiva para o crescimento de microrganismos tolerantes aos antimicrobianos, o que chamamos de resistência bacteriana (SAAVEDRA, 2000; PENNA; NICOLI, 2001).

Nesse sentido, humanos e animais domésticos estão diariamente expostos a ambientes que podem induzir uma população bacteriana resistente, principalmente pelo uso de antimicrobianos, mesmo que utilizados para fins terapêuticos, como no tratamento de infecções e profilaxia. Como não há uma grande distinção dos antimicrobianos utilizados por humanos e animais, estando contido em classes medicamentosas em comum, em animais domésticos e seus donos há ascensão de resistência aos antimicrobianos por transferência desses genes resistentes. Assim, este contato diário propicia a formação de uma complexa teia de transferência desses genes de resistência (CERQUEIRA; ALMEIDA, 2013).

A descoberta dos antimicrobianos e seus diversos mecanismos de ação (Figura 1) utilizados para o tratamento de doenças humanas e animais, mudou o cenário mundial para melhor. No entanto, o uso desses medicamentos trouxe consigo a maior pressão de seleção para o aumento da resistência bacteriana, que está ligada a uma variedade de mecanismos bioquímicos e fisiológicos que a bactéria modifica em sua estrutura celular para sua sobrevivência. Entre essas mudanças, pode-se citar, a produção de enzimas capazes de destruir ou modificar o antibacteriano, alteração dos sítios de ligação dos antimicrobianos e expressão aumentada de bombas de efluxo e/ou redução na expressão de porinas (DAVIES; DAVIES, 2010; CHRISTAKI; MARCOU; TOFARIDES, 2019; ESCUDEIRO *et al.*, 2019). Desse modo, a resistência bacteriana tornou-se uma preocupação mundial, já que o tratamento de doenças infecciosas e os procedimentos médicos e veterinários, como transplantes de órgãos e cirurgias, acabam prejudicados (OPAS, 2021).

**Figura 1** - Mecanismo de ação dos antibacterianos.



Fonte: Tortora, Funke e Case (2017)

Dessa forma, esse trabalho tem como objetivo investigar e caracterizar bactérias Gram-negativas resistentes que colonizam animais domésticos de voluntários, avaliando o

fenótipo de resistência aos beta-lactâmicos, classe de antibacterianos de maior importância clínica em humanos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Isolar e identificar bactérias Gram-negativas resistentes aos beta-lactâmicos colonizadoras do trato gastrointestinal de animais domésticos.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Processar e cultivar as amostras de fezes recebidas oriundas de animais domésticos residentes da Grande Florianópolis para o isolamento de bactérias com resistência aos beta-lactâmicos.
- Identificação da espécie bacteriana por método de Maldi-Tof.
- Caracterizar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos isolados.
- Caracterizar fenotipicamente a resistência aos beta-lactâmicos.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 A RELAÇÃO ENTRE MICROBIOTA COMENSAL E BACTÉRIAS DE INTERESSE CLÍNICO

A complexa interação entre microbiota comensal e hospedeiro se define de forma benéfica, garantindo proteção e as funções metabólicas intestinais como produção de vitaminas, entre elas, biotina, folato e vitamina K, assim como auxiliando a absorção de minerais como cálcio, magnésio e ferro (WALL *et al.*, 2009). Contudo as bactérias entéricas promovem também barreiras contra bactérias patogênicas. Entre essas barreiras pode-se citar a competição por nutrientes, a ligação que possuem com o epitélio entérico e produção de fatores antimicrobianos como ácido lático e bacteriocinas (PHILLIPS *et al.*, 2003; WALL *et al.*, 2009; DUCARMON *et al.*, 2019). Com o uso de antimicrobianos essa microbiota bacteriana intestinal acaba sofrendo uma redução, fazendo com que bactérias patogênicas que sejam resistentes a esses antimicrobianos prevaleçam, e como consequência há uma disbiose do microambiente intestinal (VAN DEN BOGAARD; STOBBERINGH, 2000).

Entre as bactérias patogênicas de interesse clínico as *Enterobacteriales* ganham destaque, como por exemplo *Escherichia coli*. Essa bactéria faz parte da microbiota intestinal animal e humana, e possui alguns sorotipos patogênicos causadores de gastroenterites e síndromes hemolíticas. Essas espécies são frequentemente produtoras de carbapenemases e cefalosporinases de terceira geração (3GC) (VAN DEN BOGAARD; STOBBERINGH, 2000; PHILLIPS *et al.*, 2003; ROUSHAM; UNICOMB; ISLAM, 2018).

*Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca*, também são bactérias de relevância clínica, devido a sua resistência crescente aos carbapenêmicos, afetando também o tratamento de pacientes caso haja colonização ou infecção por essas bactérias (MUGGEO *et al.*, 2018). Segundo Sorbara *et al.*, (2018), a colonização do trato gastrointestinal por *K. pneumoniae* pode acontecer devido a perda da colonização primária do hospedeiro, e consequentemente leva à infecções mais severas.

Outra bactéria relevante é *Salmonella* spp. que pode estar presente em fezes contaminadas, e em alimentos de origem animal como ovos e carnes. Estas bactérias possuem subespécies resistentes a penicilinas e cefalosporinas. As espécies de *Campylobacter* spp., que causam surtos em países desenvolvidos, estão presentes em carnes de frango crua ou malcozida e já se mostram resistentes a macrolídeos, quinolonas e beta-lactâmicos (VAN DEN

BOGAARD; STOBBERINGH, 2000; PHILLIPS *et al.*, 2003; PALMA; TILOCCA; RONCADA, 2020).

*Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. pertencem ao grupo das bactérias Gram-positivas, e podem estar relacionadas às infecções em animais e humanos. A primeira está presente como parte da microbiota em pele e mucosas. Esse gênero tem grande importância clínica devido a sua capacidade de se tornar resistente à meticilina e carrear o gene *mecA* fazendo-o resistente a quase todos os beta-lactâmicos. Bactérias com fenótipo MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina) são causadores de infecções comunitárias em animais domésticos e podem, portanto, carrear esses genes entre os humanos e o ambiente, muitas vezes dificultando o tratamento dos pacientes (WEESE; VAN DUIJKEREN, 2010; PALMA; TILOCCA; RONCADA, 2020).

As espécies de enterococos também possuem sua importância, já que fazem parte da microbiota humana e animal, colonizando o intestino. No entanto, podem ser resistentes à vancomicina (VRE) e transmitir esses genes a bactérias como espécies de *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* (PALMA; TILOCCA; RONCADA, 2020).

### 3.2 RESISTÊNCIA BACTERIANA

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) juntamente com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças da Europa (ECDC), criaram três termos para categorizar e definir a resistência bacteriana. As bactérias MDR (resistente a multidrogas), são aquelas resistentes a um antibiótico em três ou mais classes de antimicrobianos. Por sua vez, bactérias classificadas como extensivamente resistentes aos antimicrobianos (XDR) são aquelas que possuem resistência em pelo menos um agente em cada classe de antimicrobianos. Por último PDR (pan-droga resistente), são aquelas resistentes a todas às drogas antimicrobianas de todas as classes comercializadas (MAGIORAKOS *et al.*, 2012).

Em 2020, com a alta taxa de prescrições de medicamentos antimicrobianos, a Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) advertiu sobre o risco de disseminação de microrganismos multirresistentes (MDR). A disseminação desses genes de resistência é alta, especialmente os contidos em elementos genéticos móveis, como plasmídeos (OPAS, 2021).

As bactérias possuem alguns mecanismos para disseminar os genes de resistência, que podem ser divididos em dois grupos: a resistência intrínseca e a adquirida. A primeira se refere às características já contidas na bactéria, sem que ela tenha necessariamente tido contato com antimicrobianos, o que muitas vezes é próprio da espécie. Por outro lado, o segundo

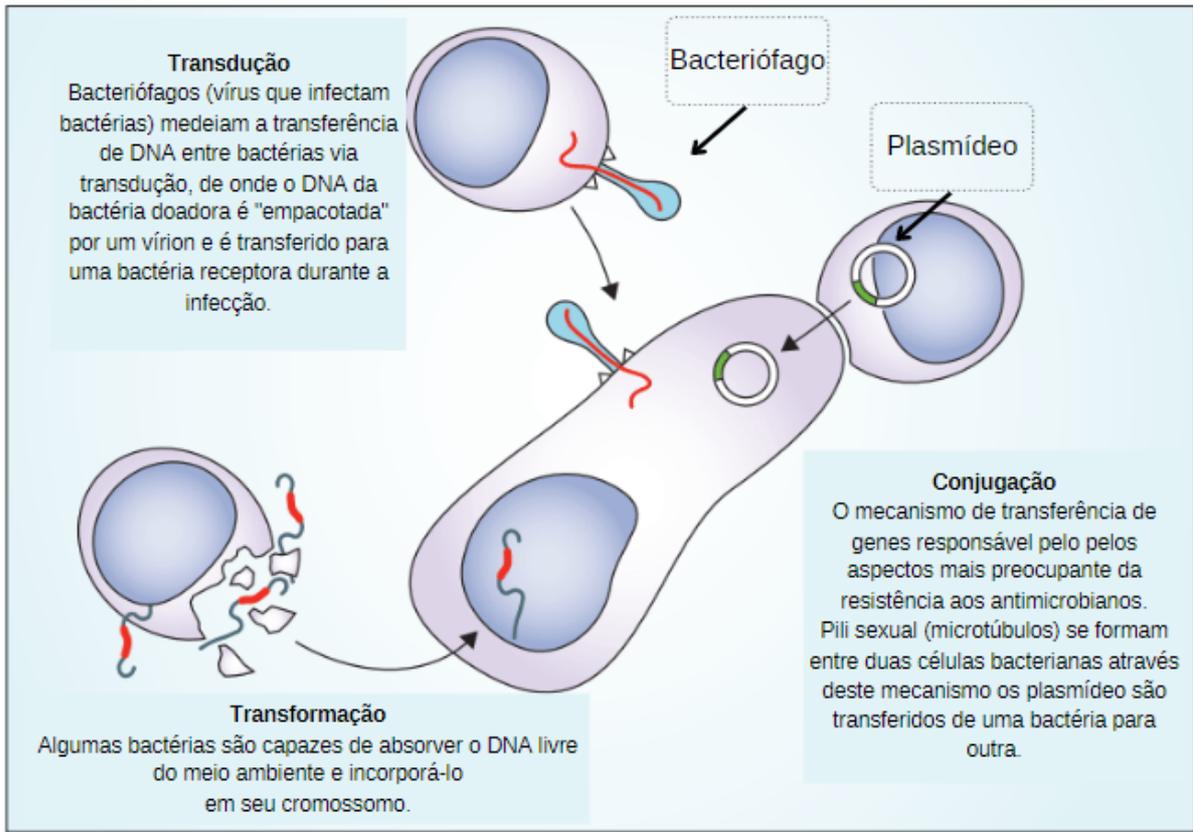
grupo se refere à mutação ou aos genes adquiridos pela bactéria de forma exógena por transferência horizontal (Figura 2) (DAVIES; DAVIES, 2010; HOLMES *et al.*, 2016).

Um dos mecanismos de resistência adquirida, denominado conjugação (Figura 2), pode acontecer por meio de aquisição de plasmídeos, partes do material genético da bactéria que fica em uma região extracromossomal. Esses plasmídeos são transferidos para outra célula bacteriana através do contato físico de *pilis* sexuais, isto faz com que a célula receptora adquira esses mesmos genes de resistência (DAVIES; DAVIES, 2010; ESCUDEIRO *et al.*, 2019).

Por outro lado, existe também a transformação (Figura 2), o qual a bactéria capta o DNA livre, proveniente de outra bactéria que sofre lise celular, e o integra em seu DNA cromossômico ou plasmidial. Já a resistência mediada por transdução (Figura 2) acontece por meio de bacteriógafos, vírus capazes de infectar bactérias. Esses vírus causam a lise celular e inserem em seu material genético fragmentos do DNA bacteriano, podendo ocasionalmente inserir esses caracteres absorvidos em outra bactéria. Por último, existe também um mecanismo chamado transposição, definido como a capacidade da própria bactéria transferir seus genes dentro da sequência de DNA por meio de transposons, essa modificação pode alterar o cromossomo promovendo deleções e inversões (CHRISTAKI; MARCOU; TOFARIDES, 2019; ASSEF; NETO, 2020).

Por esses meios a bactéria garante uma resistência contra a pressão seletiva que está exposta para sua própria sobrevivência e com isso sua resistência aos antimicrobianos. Esses genes adquiridos ou não, podem alterar a permeabilidade celular, a produção de bombas de efluxo para remover o antimicrobiano do seu interior, alteração do sítio de ação do fármaco e inativação ou modificação do antibacteriano por meio de enzimas (CHRISTAKI; MARCOU; TOFARIDES, 2019; ASSEF; NETO, 2020).

**Figura 2** - Mecanismo de transmissão de material genético pela bactéria.



Fonte: Adaptado pela autora de Holmes *et al.* (2016)

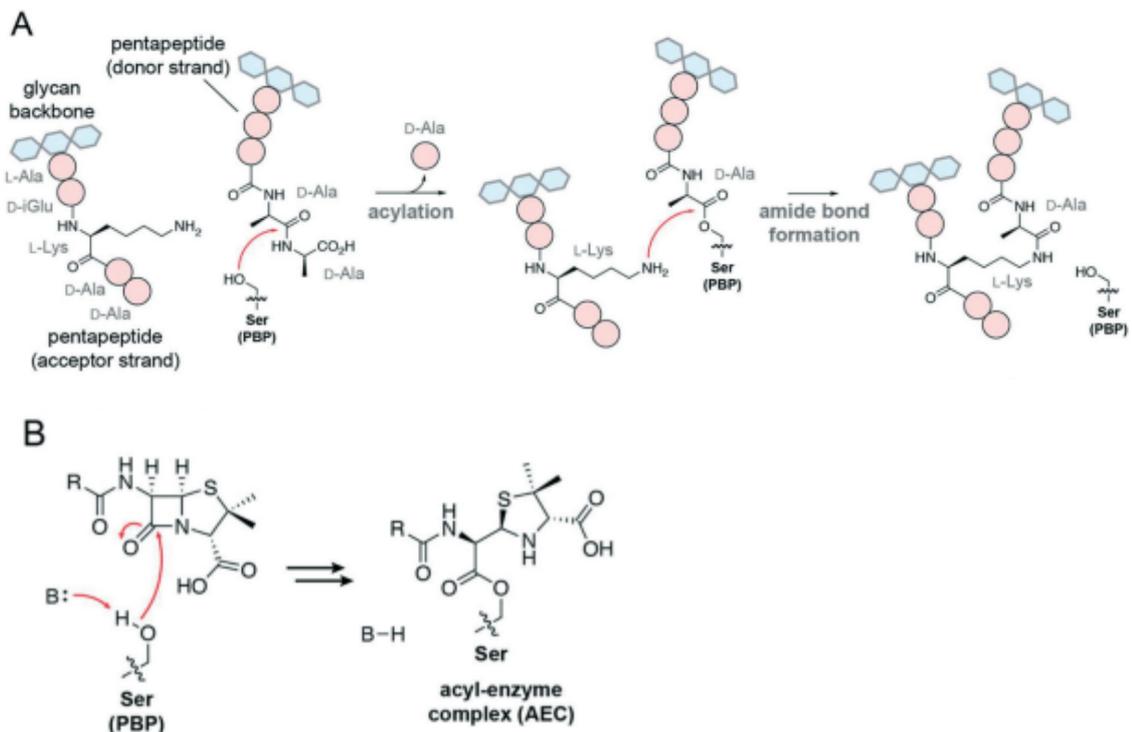
### 3.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS BETA LACTÂMICOS

A história dos antimicrobianos beta-lactâmicos se inicia em 1928, quando Alexander Fleming, acidentalmente inoculou fungos de *Penicillium notatum* em colônias de estafilococos. Fleming, percebeu que as colônias bacterianas foram inibidas com a presença do fungo. A princípio, a sociedade científica não deu muito valor à descoberta do cientista, mas foi durante a Segunda Guerra Mundial que o interesse dos cientistas Howard Florey e Ernest Chain retomaram os estudos de Fleming e conseguiram isolar e verificar as propriedades da penicilina *in vivo*. Essa descoberta impactou positivamente a produção de antimicrobianos que eram capazes de curar doenças bacterianas, que até então não possuíam nenhum tipo de cura (HARE, 1982; KONG; SCHNEPER; MATHEE, 2010; LIMA *et al.*, 2020).

A parede celular bacteriana é composta por vários compostos como ácido murâmico, ácido teicóico, carboidratos, aminoácidos que juntos formam um composto essencial para a bactéria, chamada de peptidoglicano (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; LIMA *et al.*, 2020).

Os antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos, possuem sua ação na inibição da síntese de peptidoglicanos. As enzimas denominadas de proteínas ligadoras de penicilina (PBP - *Penicillin-binding proteins*) são as responsáveis por formar a ligação cruzada do peptidoglicano e compor a parede bacteriana. Essas enzimas são inibidas com uso do medicamento, isso faz com que a bactéria perca rigidez na parede celular, aumentando a suscetibilidade à pressão osmótica, levando à lise celular. A reação que faz a ligação do medicamento (que possui um núcleo beta-lactâmico) é por inibição covalente por meio de uma reação de acilação, isso produz um produto chamado acil-enzima estável, impedindo a ação da PLP na transpeptidação (Figura 3) (WHALEN; PANAVELIL; FINKEL, 2016; MORA-OCHOMOGO; LOHANS, 2021).

**Figura 3 - Mecanismo, inibição e estruturas das transpeptidases PBP.**



Fonte: Mora-Ochomogo e Lohans (2021)

Legenda: Em (A) mostra-se a ação da proteína ligadora de penicilina ( PLP) na formação da parede celular bacteriana. Em (B) está a ação dos beta-lactâmicos sobre a PLP formando o produto acil-enzima estável.

As penicilinas são um grupo de antibióticos que possuem em sua estrutura o anel beta-lactâmico. Dentro desta classe, que podem ser divididas em penicilinas naturais como a

penicilina G e penicilina V, que são produzidas a partir de culturas de *Penicillium* spp; já as penicilinas semissintéticas, como oxacilina, ampicilina e amoxicilina, são produzidas a partir da estrutura das penicilinas naturais com adição de cadeias laterais distintas ligadas ao anel principal (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; LIMA *et al.*, 2020).

As cefalosporinas agem da mesma forma que as penicilinas, mas diferem em seu centro com um anel di-hidrotiazínico. Esse grupo é dividido quanto às suas gerações, como por exemplo: cefazolina (primeira geração), cefuroxima (segunda geração), ceftazidima e cefotaxima (terceira geração) e cefepime (quarta geração) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; LIMA *et al.*, 2020; OPLUSTIL *et al.*, 2020).

A classe dos beta-lactâmicos também contempla os fármacos da subclasse dos carbapenêmicos, sendo atualmente considerados os antimicrobianos mais importantes nos tratamentos hospitalares, devido ao seu amplo espectro de atuação. O núcleo se difere das penicilinas e cefalosporinas devido a substituição de um átomo de carbono por um átomo de enxofre e a presença de uma ligação no núcleo da estrutura. Entre os antimicrobianos que podem ser citados estão o ertapenem, meropenem, imipenem e doripenem (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

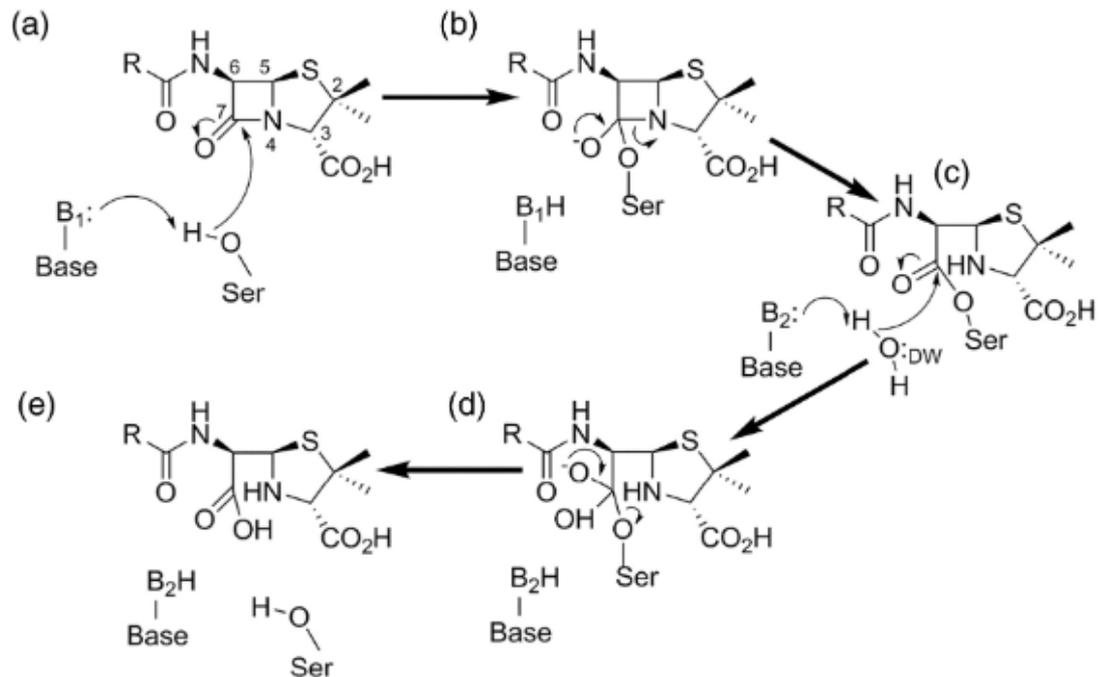
Por último, o monobactâmico, é chamado assim devido ao único anel beta-lactâmico, seu representante é o aztreonam que possui uma ótima ação contra bactérias Gram-negativas aeróbias, como por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa* (KARAKONSTANTIS; KRITSOTAKIS; GIKAS, 2020; LIMA *et al.*, 2020).

### 3.4 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS BETA LACTÂMICOS

A resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos é um dos mecanismos mais antigos investigados, visto que as primeiras enzimas a degradar o anel beta-lactâmico, as beta-lactamases, foram descritas por volta dos anos 1940, inativando a penicilina e como consequência a ineficácia do tratamento com esse medicamento. Observando o cenário mundial atual, as beta-lactamases são responsáveis pela maior parte das bactérias Gram-negativas MDR (BUSH; FISHER, 2011).

As beta-lactamases produzidas pelas bactérias agem se ligando ao anel beta-lactâmico desses fármacos e impedindo sua ação (Figura 4). Essa classificação é mapeada segundo Bush (2018), como representado na Figura 5, em quatro subclasses, agrupadas segundo suas características moleculares e fenotípicas: características do sítio alvo; classe molecular; grupo funcional; e perfil de inibição (BUSH, 2013).

**Figura 4** - Representação da ação das beta-lactamases no anel beta-lactâmico



Fonte: Tooke *et al.* (2019)

Legenda: A figura mostra a ação de hidrólise no anel beta-lactâmico, em (a) a base ( $B_1$ ) ativa a Ser (serina) para o ataque nucleofílico no carbono-7 ( $C_7$ ), gerando o composto acil-enzima covalente (c) composto que será atacado por outra base ( $B_2$ ), fazendo com que o anel beta-lactâmico se quebre e fique ineficaz para agir na enzima PLP.

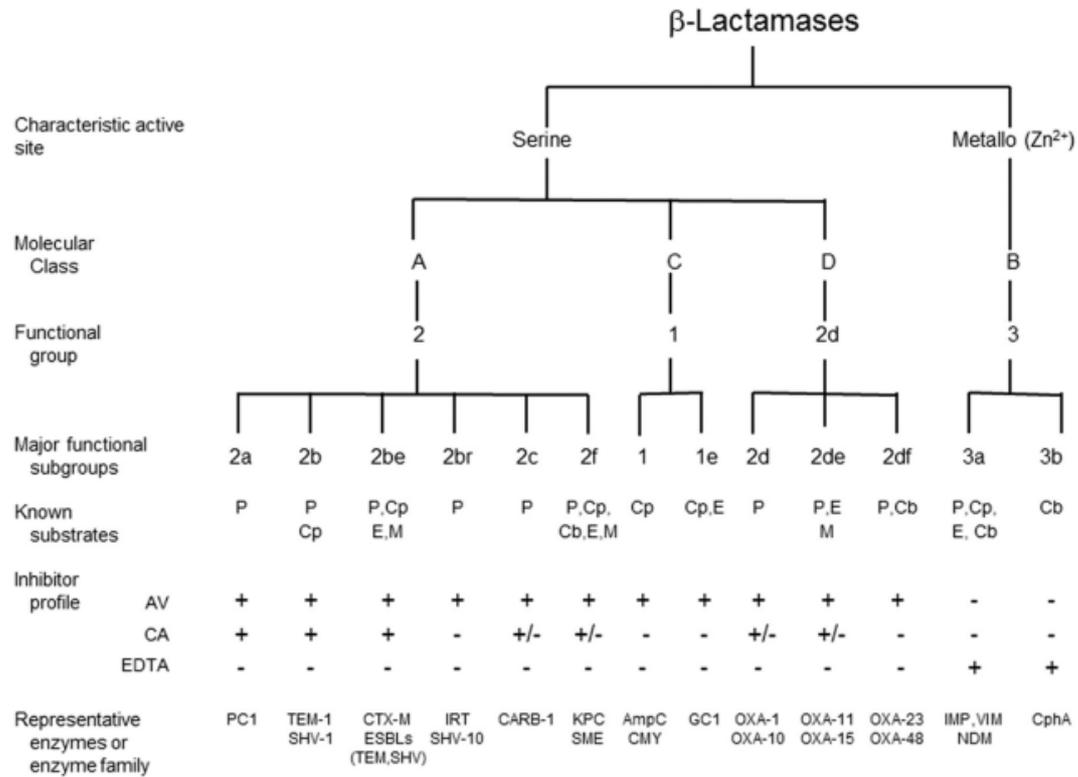
As beta-lactamases são divididas segundo suas características moleculares e funcionais (Quadro 1). Entre essas subdivisões estão as serino-beta-lactamases e as metalo-beta-lactamases. A primeira inclui a classe A, a qual contém a maioria das enzimas do tipo ESBLs (beta-lactamases de espectro estendido). Essas enzimas são eficazes na inativação de todas as cefalosporinas de primeira e segunda geração, e várias cefalosporinas de terceira e quarta geração, dependendo da enzima, podem ser inibidas pela presença de um inibidor de beta-lactamase como o ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam (BEVAN; JONES; HAWKEY, 2017).

A classe A também inclui enzimas codificadas pelo gene  $bla_{KPC}$ , o qual possui atividade contra beta-lactâmicos e carbapenêmicos, relatado primeiramente em espécies de *Klebsiella pneumoniae*, mas hoje presente em outros bacilos Gram-negativos. As enzimas de classe D, quando descobertas, possuíam ação contra as oxacilinas, por isso foram chamadas de oxacilinas. São produzidas por genes como o  $bla_{OXA-48}$ , presentes nas *Enterobacterales*, principalmente em espécies de *K. pneumoniae* mas hoje presente em espécies de *Acinetobacter baumannii* (ANTUNES *et al.*, 2014). Além disso, o subgrupo 2d, possuem uma

grande relevância clínica, isso porque agrupam enzimas, que quando descobertas, eram capazes de hidrolisar antibióticos do tipo oxacilina, portanto produtoras de enzimas como OXA-1 e OXA-10. Já o grupo 2df possui uma atividade variável degradando carbapenêmicos, mas percebe-se que a codificação dessas enzimas são do tipo cromossomal e foram caracterizadas primeiramente na espécie *Acinetobacter baumannii*. No entanto, essa classe pode ser também do tipo plasmidial, produzida por algumas enterobactérias (BUSH; JACOBY, 2011; PROCOP *et al.*, 2018).

Dentro da família das serino-carbapenamases também se observa presença da classe C, que engloba bactérias que produzem cefalosporinases do tipo AmpC (KOPOTSA; SEKYERE; MBELLE, 2019; ANVISA, 2020). São enzimas mais eficazes em quebrar o anel beta-lactâmico ou também conhecido como ácido 7- aminocefalosporânico (7-ACA), anel que caracteriza o grupo das cefalosporinas. O ácido clavulânico é um indutor eficiente das beta lactamases do tipo AmpC comparados com os outros inibidores como o tazobactam ou o sulbactam (BUSH; JACOBY, 2010; PROCOP *et al.*, 2018). Outro exemplo da presença desta enzima, é em *Pseudomonas aeruginosa* que a produzem de forma cromossomal, assim como as bactérias do Grupo MYSPACE (*Morganella morganii*, *Yersinia* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Acinetobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp.) (BUSH, 2018, ANVISA, 2020).

Por último, a classe B, de clara relevância clínica, é constituída por enzimas metalo-beta-lactamases, possuem um íon zinco em seu sítio ativo, são fortemente capazes de hidrolisar a classe dos carbapenêmicos e podem ser inibidas pelo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e são codificadas por genes como *bla<sub>NDM</sub>* (New Delhi metalo-beta-lactamase), *bla<sub>VIM</sub>* (Verona imipenemase) e *bla<sub>IMP</sub>* (Imipenases) (BUSH, 2013; PROCOP *et al.*, 2018; SAWA; KOOGUCHI; MORIYAMA, 2020).

**Figura 5** - Classificação das beta-lactamases

Fonte: Bush (2018)

Legenda: A relação molecular e funcional entre as beta-lactamases. Avibactam (AV), ácido clavulânico (AC), Carbapenêmicos (Cb), Cefalosporinas (Cp), Cefalosporinas de Espectro Estendido (E), Monobactam (M), Penicilina (P).

**Quadro 1** - Classificação comparada das beta-lactamases segundo Bush-Jacoby

(Continua)

Grupo Funcional	Classe Molecular	Enzimas	Substrato	Inibidores enzimáticos	Presentes em
1	C	AmpC, ACT-1, CMY-2, FOX-1	Cefalosporinas e cefamicinas	AF; cloxacilina	Enterobacteriaceae, espécies de <i>Acinetobacter</i>
1e	C	GC1,CMY-37	Cefalosporinas e monobactâmicos	Não é inibido pelos AC e TB	Enterobacteriaceae
2a	A	PC1	Penicilinas	AC e TB	<i>S.aureus</i>
2b	A	TEM-1,TEM-2, SHV-1	Penicilinas	AC e TB	Enterobacteriaceae

**Quadro 1** - Classificação comparada das beta-lactamases segundo Bush-Jacoby

(Conclusão)

Grupo Funcional	Classe Molecular	Enzimas	Substrato	Inibidores enzimáticos	Presentes em
2be	A	TEM-3,SHV-2, CTX-Ms,PER 1, VEB-1	Cefalosporinas de 3 <sup>a</sup> e 4 <sup>a</sup> geração e Monobactâmicos	AC e TB	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Kluyvera spp.</i>
2br	A	TEM-30, SHV-10	Penicilinas	Não é inibido pelos AC e TB	Enterobacteriaceae
2ber	A	TEM-50, TEM-68, TEM-89	Cefalosporinas de 3 <sup>a</sup> e 4 <sup>a</sup> geração e Monobactâmicos	Não é inibida pelos AC e TB	Enterobacteriaceae
2d	D	OXA-01, OXA-10	Cloxacilina	Variável para AC ou TB	Enterobacteriaceae
2de	D	OXA-11, OXA-15	Cefalosporinas de 3 <sup>a</sup> e 4 <sup>a</sup> geração	Variável com AC ou TB	<i>P. aeruginosa</i>
2df	D	OXA-23, OXA-48	Carbapenêmicos	Variável com AC ou TB	<i>A. baumannii</i> , Enterobacteriaceae
2e	A	IMI-1, KPC-2, KPC-3, SME-1, GES-2	Carbapenêmicos	AC e TB	Enterobacteriaceae
2f	A	KPC-2,SME-, IMI-1	Carbapenêmicos	Variável com AC ou TB	Enterobacteriaceae
3a	B	IMP-1, VIM-1, NDM-1	Carbapenêmicos	EDTA	<i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>
3b	B	L1, CAU-1, GOB-1	Carbapenêmicos	EDTA	<i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>

Fonte: adaptado pela autora de Procop *et al* (2018) e ANVISA (2022)

Legenda: Inibidores de betalactamase: (AF) ácido fenilborônico; (AC) ácido clavulânico; (TB) tazobactam; (EDTA) ácido etilenodiaminotetracético.

### 3.5 ANIMAIS DOMÉSTICOS E A DISSEMINAÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA

Os antimicrobianos são medicamentos amplamente utilizados para o tratamento de infecções na clínica veterinária e humana. Na clínica veterinária principalmente tem como intuito garantir o bem-estar e a saúde animal; prevenir a propagação de doenças zoonóticas

entre animais e humanos e prevenir doenças de fontes alimentares (GUARDABASSI *et al.*, 2010).

Contudo, seu uso está atrelado também à promoção de crescimento em animais agropecuários. Na Europa, na década de 2000, cerca de metade dos antimicrobianos consumidos anualmente eram utilizados em animais. Consequentemente, estudos sugeriram que, o uso disseminado de glicopeptídeos, como a avoparcina, poderiam ter gerado espécies de *Enterococcus* spp resistentes à vancomicina (VRE), e dessa maneira, as bactérias com esses genes acabaram, também, infectando humanos (VAN DEN BOGAARD; STOBBERINGH, 2000). Nesse sentido, em 2016 a Instrução Normativa nº 45, estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), proibiu o uso de sulfato de colistina como promotor de crescimento, essa medida foi tomada devido à descoberta da transmissão do gene *mcr-1* presente na espécie *E. coli* para outras bactérias por meio de plasmídeos, resultando em uma disseminação da resistência (MAPA, 2016; FRANCESCHINA *et al.*, 2019).

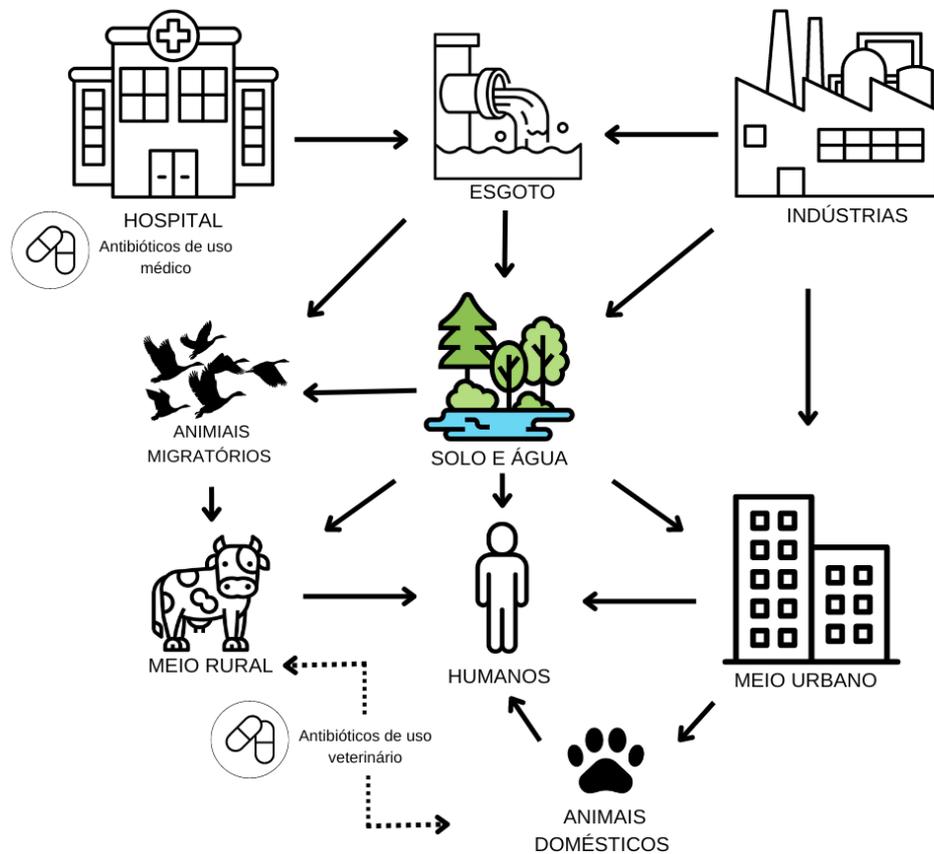
Segundo Regula *et al.* (2009), em um estudo feito na Suíça para verificar o perfil de uso de antimicrobianos em clínicas veterinárias, mostrou que em animais de criação como bovinos, suínos e equinos, utilizou-se com maior frequência os aminoglicosídeos, tetraciclina e sulfonamidas. Em comparação com animais domésticos como cães e gatos, o uso de penicilinas e cefalosporinas foi indicado em mais de 60% dos casos. Esses mesmos antimicrobianos também são utilizados em humanos, mostrando tênue linha de uso que existe quando se trata do uso de antimicrobianos para animais e humanos.

Para diminuir o uso indiscriminado de antimicrobianos no tratamento de animais, a World Organization for Animal Health (WOAH) criou a regra dos ‘cinco somentes’ visando preservar o uso desses medicamentos para o combate de infecções. Entre as regras pode-se citar, a utilização de antimicrobianos somente quando houver uma prescrição do médico veterinário; respeitar o tempo de tratamento adequadamente; fazer somente quando houver uma infecção bacteriana; que a compra de antimicrobianos seja feita em lugares autorizados; e que os animais recebam cuidados como higiene e vacinação adequadas (OIE, 2022).

É importante citar, também, que o MAPA, no ano de 2009, criou a Instrução Normativa nº 26, cujo objetivo é estabelecer normas para a fabricação, controle de qualidade, comercialização e uso de antimicrobianos de uso animal. Segundo o artigo nº 18, as classes dos antimicrobianos como anfenicóis, tetraciclina, beta-lactâmicos, quinolonas e sulfonamidas são de uso exclusivo para tratamento de uso veterinário, não podendo ser usado como conservante de alimentos animais ou como promotores de crescimento (MAPA, 2009).

Portanto, é importante ressaltar que essas bactérias resistentes tanto zoonóticas quanto provenientes da microbiota de animais podem também contaminar os seres humanos pelo contato direto ou indireto (Figura 6) - alimentação, água e solo - chegando a colonizar o trato gastrointestinal humano e transferir essa resistência para as outras bactérias da microbiota bacteriana intestinal ou até mesmo para outras bactérias patogênicas, criando um ciclo de transferência de genes de resistência, e podendo modificar o cenário de tratamento para algumas doenças (VAN DEN BOGAARD; STOBBERINGH, 2000; DOLEJSKA; PAPADIANNITSIS, 2018; PALMA; TILOCCA; RONCADA, 2020; RUMI *et al.*, 2021).

**Figura 6** - Inter-relação entre a resistência bacteriana em animais, humanos e ambiente



Fonte: Adaptado pela autora de Dolejska & Papagiannitsis (2018)

### 3.6 SAÚDE ÚNICA NO CONTEXTO DA MICROBIOLOGIA

A Saúde Única é um termo utilizado para a implementação de programas e políticas para melhorar a saúde humana, animal e ambiental. Entre essas políticas pode-se citar: o

controle de doenças zoonóticas, segurança alimentar, saúde ambiental, controle de resistência antimicrobiana (CDC, 2022).

O uso comum de antimicrobianos na área veterinária e médica faz com que pressão seletiva dessas bactérias seja maior, fazendo com que o tratamento com antimicrobianos nessas áreas seja muitas vezes ineficaz (PALMA; TILOCCA; RONCADA, 2020). Observa-se também, a utilização desses medicamentos como produtores de crescimento em criações bovinas, suínas e de aves, estando associadas ao aumento da resistência. Tudo isso acaba convergindo para a interação que os animais possuem com os humanos e o ambiente, e consequentemente essas bactérias resistentes podem contaminar vários ambientes como água, solo e plantas (MCEWEN; COLLIGNON, 2018).

A resistência aos antimicrobianos também está ligada a vários fatores ambientais como a produção intensiva de alimentos, comercialização de alimentos agrícolas de forma globalizada, alterações climáticas, aumento populacional e da urbanização, aves migratórias, falta de saneamento básico e excreção de antibióticos não metabolizados no ambiente. Todos esses preceitos contribuem para a disseminação de genes de resistência presente nas bactérias (ISKANDAR *et al.*, 2020). Para controlar o uso de antimicrobianos a OMS e WOAHL criaram três classificações para o antimicrobianos: os criticamente importantes, aqueles que possuem uso hospitalar e veterinário mas são utilizados em infecções mais graves como aminoglicosídeos, penicilinas, fluorquinolonas, entre outros; os considerados altamente importante que incluem as cefalosporinas de primeira e segunda geração, lincosamidas entre outros; e por último os importantes, como por exemplo as estreptograminas (ASLAM *et al.*, 2021).

É por meio dessas políticas que a Saúde Única visa uma redução e uma regulamentação no uso de antimicrobianos em escala de criação de animais como produtores de crescimento. No âmbito da Saúde Única humana, têm-se como objetivo a conscientização das pessoas quanto ao uso correto desses medicamentos, assim como a diminuição das prescrições. No setor ambiental, há necessidade de diminuir os resíduos industriais principalmente de indústrias farmacêuticas e agrícolas (WOOLHOUSE *et al.*, 2015; PALMA; TILOCCA; RONCADA, 2020).

#### 4. JUSTIFICATIVA

Diante da complexa interação entre humanos, animais e ambiente, têm-se uma maior preocupação em combater a transmissão de bactérias resistentes, implementando políticas de prevenção, como definido pelo conceito de Saúde Única. Entre uma das abordagens desse conceito tem-se o monitoramento ambiental da resistência bacteriana (MCEWEN; COLLIGNON, 2018; OMS, 2022).

Ao longo dos anos, o crescimento de bactérias multirresistentes tem preocupado a comunidade científica (OPAS, 2021). Com a pandemia do SARS-COV-2 no final 2019 e início de 2020, infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) acabaram se tornando mais comuns, inter-relacionadas com o uso frequente de antimicrobianos, conseqüentemente o risco de disseminação de genes de resistência e de proliferação de bactérias resistentes se expandiu (OPAS, 2021).

Vale ressaltar que a coprodução de carbapenemases por genes como *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub> e *bla*<sub>OXA-23</sub> são um grande agravo no tratamento de pacientes infectados por essas bactérias (BRASIL, 2022). As bactérias que apresentam o fenótipo ESBL, também ganham destaque, uma vez que existem vários genes associados a esse fenótipo. Mundialmente os genes do tipo *bla*<sub>CTX-M</sub> são os mais prevalentes, conferindo resistência às cefalosporinas de amplo espectro (BEVAN; JONES; HAWKEY, 2017).

Segundo a ECDC (2021), entre os anos de 2016 a 2020, entre as infecções causadas por bactérias, 53,1% foram causadas por *Escherichia coli* resistente a cefalosporinas de terceira geração, resultando em um maior impacto na saúde pública.

Dados econômicos mostram que o total de óbitos mundiais, por ano, é de cerca de 700 mil pessoas, causadas por microrganismos multirresistentes. Sob essa perspectiva, até o ano 2050 os prejuízos causados pela resistência bacteriana chegariam de 60 a 100 trilhões de dólares, se nenhuma medida preventiva for tomada até lá (O'NEILL, 2014).

Portanto, sabe-se que é importante avaliar o risco de transmissão desses genes de resistência para humanos e animais já que o ciclo de interação é algo que acontece diariamente. Para descrever essa cadeia de eventos é necessário que estudos sejam feitos para se entender os vetores ecológicos envolvidos e identificar onde humanos e animais podem estar sendo afetados (LARSSON; FLACH, 2021).

## 5. METODOLOGIA

Tratou-se de um estudo experimental quantitativo.

### 5.1 ASPECTOS ÉTICOS

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humano (CEPSH-UFSC) e Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFSC) dispensou qualquer autorização prévia nesta pesquisa devido a ausência de manipulação dos animais.

Foram coletadas amostras de animais domésticos cujos tutores participaram de forma voluntária, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

### 5.2 FICHA DO TUTOR

A ficha do tutor (Apêndice A), tinha como objetivo obter informações específicas sobre os animais domésticos de cada amostra doada, o tutor preenchia a ficha com informações como: nome, sexo, idade, qual animal de estimação, tipo de alimentação, onde o animal mora (casa ou apartamento), se ele passeia ou tem acesso frequente à rua. Se possuía algum histórico de doença e se utilizou algum antimicrobiano nos últimos seis meses. Essas informações permitiram que fosse traçado a origem e o perfil dos isolados resistentes.

### 5.3 COLETA DAS AMOSTRAS E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras coletadas foram doadas por tutores de animais domésticos que se voluntariaram, residentes da Grande Florianópolis, contemplando municípios como Florianópolis, São José, Palhoça e Biguaçu entre os meses de janeiro e maio de 2023.

As amostras que chegavam ao laboratório didático de Microbiologia Molecular Aplicada (MiMA), eram triadas para verificar se estavam em sacos plásticos limpos ou potes de coleta estéreis, para serem numeradas. As informações coletadas a partir do questionário (Apêndice A), foram colocadas em uma tabela no sistema Google Planilha.

Uma alçada equivalente a 10 µL de fezes, foi passada para um tubo de vidro com meio líquido TSB (Tryptic Soy Broth) e colocada na incubadora com agitação à 37°C por seis horas. Em seguida, 500 µL da amostra foram colocados em meio TSB suplementados com

antibióticos, cefotaxima 2µg/mL (CTX) e ertapenem 0,5 µg/mL (ERT), separadamente, e incubados a 37°C *overnight* (Figura 7).

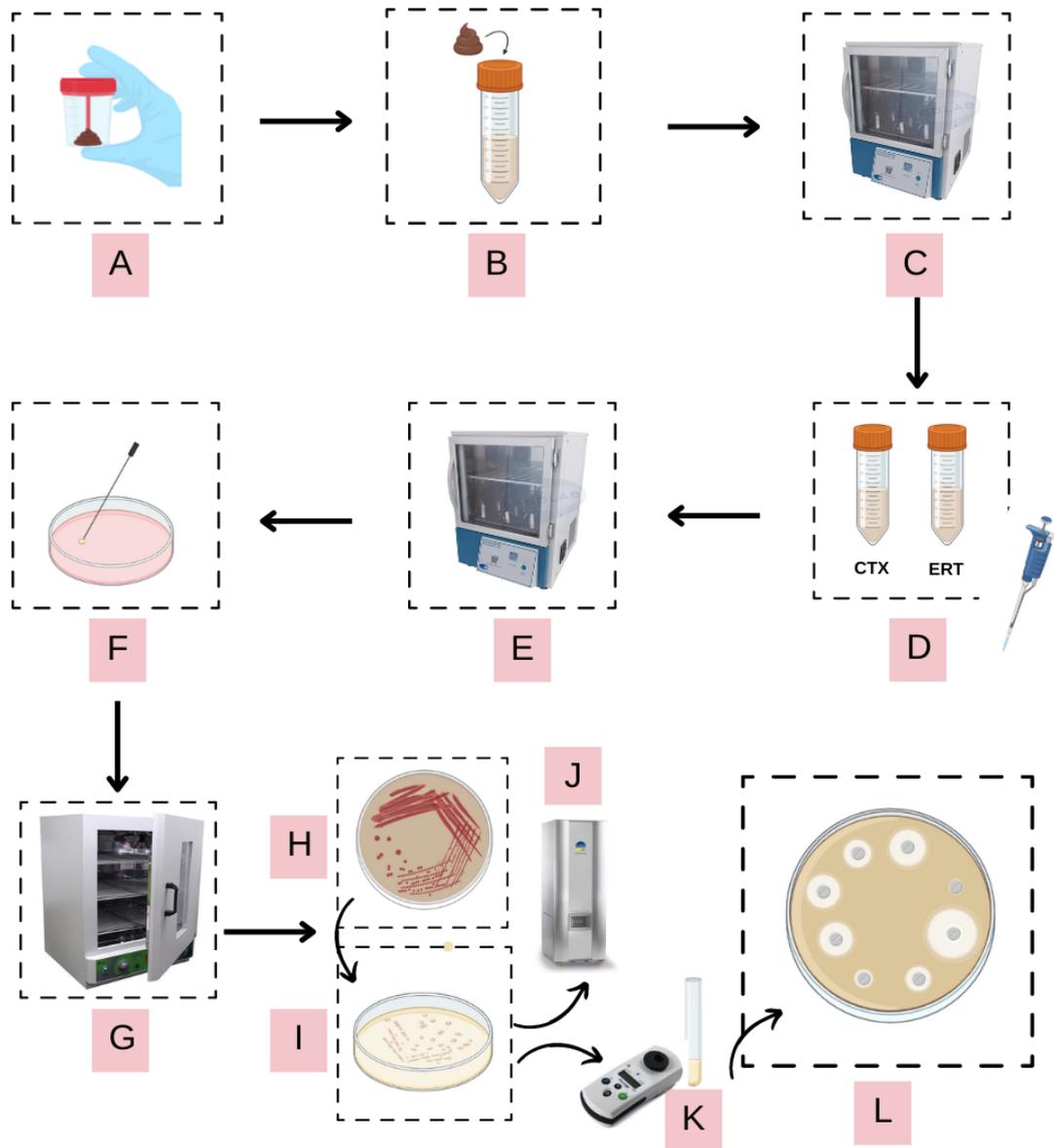
No dia seguinte, uma alíquota de 10µL foi semeada em Ágar MacConkey, utilizando-se uma alça descartável estéril, colocando-se um disco dos antibióticos selecionados na primeira estria, criando um ambiente de seleção das bactérias resistentes. Os meios semeados foram incubados à 37°C por 16 à 24 horas.

No dia seguinte, as colônias que cresceram perto do disco, em uma distância de até 17 mm para a cefotaxima e 25 mm para o ertapenem eram semeadas com uma agulha previamente flambada no ágar tríptico de soja (TSA), incubadas a 37 °C *overnight*.

As colônias puras previamente crescidas em ágar TSA foram diluídas em salina estéril (0,9%) em tubos estéreis, com o auxílio de uma alça bacteriológica previamente flambada em bico de Bunsen, em uma quantidade suficiente para preparar uma suspensão que atingisse uma turbidez entre 0,45 a 0,63 na escala McFarland (aproximadamente 10<sup>8</sup> UFC/mL). A turbidez foi medida com o auxílio de um turbidímetro DensiChek™.

Em seguida, com um *swab* estéril, essa solução foi semeada em uma placa de 150 mm com ágar Mueller-Hinton. Para o teste fenotípico de disco-aproximação para triagem de ESBL, pelo método de disco-difusão (BAUER *et al*, 1966), utilizou-se os antibacterianos preconizados segundo BrCAST 2023 (BrCAST, 2023) para *Enterobacterales*, amoxicilina com ácido clavulânico (AMC 30µg) aztreonam (ATM 30µg); ceftriaxona (CRO 30µg); cefepime (FEP 30µg) e ceftazidima (CAZ 10µg). Outros antimicrobianos como: meropenem (MER 10µg), imipenem (IMP 10µg/mL), ertapenem (ERT 10µg), ciprofloxacino (CIP 5µg), gentamicina (GEN 10µg), amicacina (AK 30µg), tetraciclina (TET 30µg), cefoxitina (CFO 30µg), também foram dispostos na placa. As placas foram incubadas a 35±2°C por 16 a 20 horas. No dia subsequente, os diâmetros foram anotados e interpretados segundo os dados preconizados no BrCAST 2023.

**Figura 7** - Fluxograma esquemático da metodologia realizada



Fonte: Elaborada pela autora (2023)

Legenda: (A) Recebimento das amostras de fezes e cadastro das amostras; (B) Inoculação das amostras em caldo TSB; (C) Incubação da suspensão por 6h na incubadora por agitação; (D) 500 µL da amostra incubada foram passadas para TSB suplementado com antibiótico CTX e ERT; (E) Incubação na incubadora por agitação por 18 a 24h; (F) Semeadura por esgotamento em Ágar MacConkey; (G) Incubação por 18 a 24h; (H) Seleção das colônias que cresceram perto do disco em Ágar MacConkey; (I) Repique para Ágar TSA; (J) Identificação das espécies por Maldi-Tof (K) Preparo das suspensões bacterianas para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos utilizando-se um turbidímetro; (L) Inoculação da suspensão em Ágar Muller Hinton e inserção dos discos de antimicrobianos. Leitura dos halos após 16 a 20h de incubação.

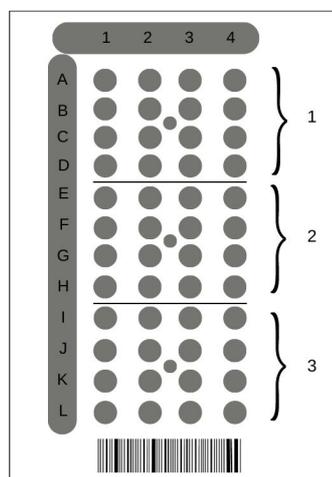
## 5.4 SELEÇÃO DOS ISOLADOS

### 5.4.1 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES BACTERIANAS

As espécies analisadas foram identificadas pelo método automatizado Vitek® MS que utiliza a tecnologia de Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF), em parceria com o Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina (LACEN-SC). O Maldi-Tof emite uma explosão de laser que ionizam a amostra, fazendo com que gere uma “nuvem” de proteínas que se volatilizam, e passam por um anel de eletrodo, elas são detectadas por um sensor que cria um espectro de massa e gera um espectrograma que é comparado com o banco de dados do equipamento, liberando a espécie que foi reconhecida (BIOMÉRIEUX, 2022).

Os isolados foram preparados em uma lâmina guiada que faz parte do sistema automatizado. Cada lâmina possui um código de identificação, divididas em três quadrantes de 16 círculos (*spot*), onde as bactérias puras foram inoculadas com auxílio de uma alça bacteriológica de 10µL de plástico estéril (Figura 8). No centro de cada quadrante foi inoculado uma cepa de *E. coli* ATCC 8739, que é utilizada no banco de dados para calibrar o equipamento. Após a inoculação das bactérias nos círculos indicados, foi colocado 1µL da matriz. Com a lâmina seca, foi feita a leitura no aparelho.

**Figura 8** - Representação esquemática da lâmina inserida no Vitek® MS

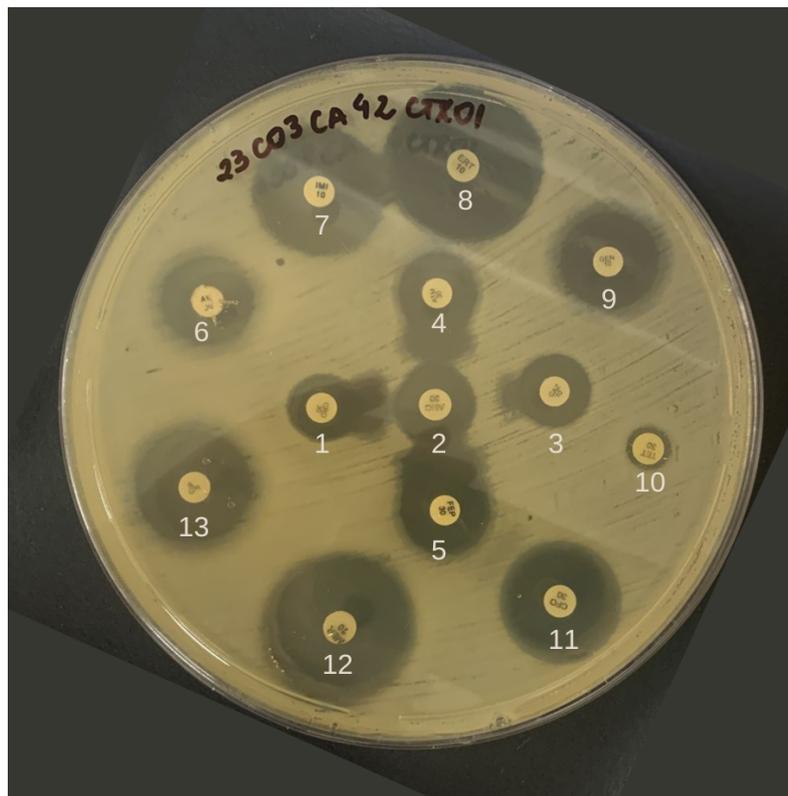


Fonte: Adaptado pela autora de Biomérieux (2022)

#### 5.4.2 IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA DOS ISOLADOS

A identificação fenotípica dos isolados foi realizada pelo método de disco-aproximação segundo proposto por Jarlier *et al* (1998) para detecção de ESBL. Para a realização deste teste foram utilizados disco de antimicrobianos dispostos em ágar Muller-Hinton. O disco de amoxicilina com ácido clavulânico (AMC 30µg) é disposto no centro da placa enquanto os discos de cefepime (FEP 30µg), ceftazidima (CAZ 10µg), ceftriaxona (CRO 30µg) e aztreonam (ATM 30µg) foram dispostos ao redor em uma distância de 20 mm do disco de AMC, como representado na Figura 9. As placas foram incubadas de 16 a 20 horas à  $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Na leitura da placa verifica-se a presença de halo fantasma (*ghost zone*) ou distorção do halo próximo do disco de AMC, foram consideradas positivas para esse fenótipo todos os isolados que apresentaram o halo fantasma.

**Figura 9** - Representação do teste de disco-aproximação integrado ao Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA)



Fonte: Elaborada pela autora (2023)

Legenda: Distribuição dos discos na placa, os números embaixo de cada disco de antibiótico representam um antimicrobiano distinto: (1) CRO; (2) AMC; (3) CAZ; (4) ATM; (5) FEP; (6) AK; (7) IMP; (8) ERT; (9) GEN; (10) TET; (11) CFO; (12) MER; (13) CIP. Observa-se a distorção do halo dos discos 1, 3, 4 e 5 ao se aproximar do disco 2.

Os isolados que apresentaram resistência aos antimicrobianos da classe dos carbapenêmicos, como: ertapenem, meropenem e imipenem no método de disco difusão, foram testados pelo método colorimétrico de Blue Carba.

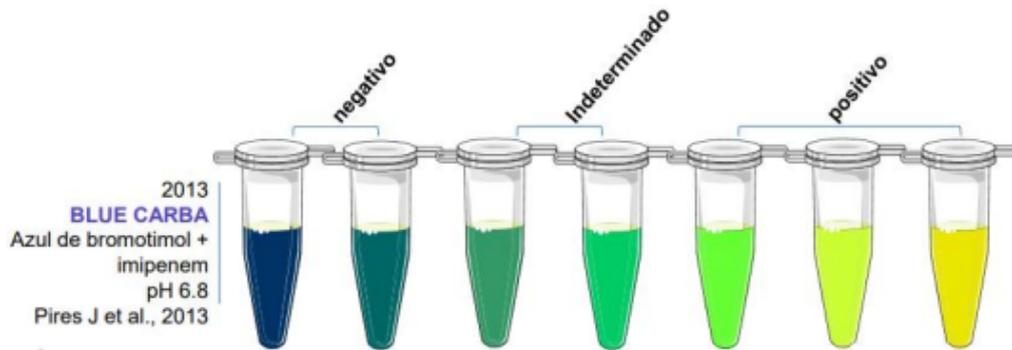
O método de Blue Carba foi feito a partir do procedimento descrito por Pires, Novais e Peixe (2013). Para a preparação do método foi necessário fazer uma mistura de 80 mL de água destilada estéril, 4 mL de solução de sulfato de zinco 10mM, 2 mL de azul de bromotimol a 2% diluídos em DMSO (Dimetilsulfóxido). Após a mistura pronta foi corrigido o pH para  $6,8 \pm 0,05$  com uma solução de NaOH 0,1 N. Por fim, o volume foi completado com água até chegar a 100 mL. A solução foi filtrada e apresentou uma coloração verde esmeralda.

A diluição do Imipenem 500 mg + Cilastatina 500 mg (Tienam®) foi feita, pesando-se 10 mg do antimicrobiano para cada 1mL de Blue Carba a ser utilizado no teste no momento do uso.

Para a realização do teste foram pipetados 100  $\mu$ L da solução verde esmeralda em dois microtubos de 1,5 mL. No primeiro microtubo para o controle negativo foi adicionado uma alçada equivalente a 1 $\mu$ L do isolado bacteriano a ser testado. Enquanto no segundo microtubo foi adicionado o mesmo isolado a ser testado e a solução de Tienam®. Os dois microtubos foram agitados em vortex para a homogeneização completa da solução e incubados por até 2 horas à  $35^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ .

O teste se apresenta positivo quando há a mudança da coloração de azul para amarelo, devido a degradação do Imipenem pelas enzimas carbapenemases e redução do pH da solução (Figura 10).

**Figura 10** - Interpretação do método colorimétrico Blue Carba



Fonte: Palmeiro (2019)

#### 5.4.3 CLASSIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES

A classificação das bactérias multirresistentes se deu segundo Magiorakos *et al* (2012), que categoriza a resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Para as *Enterobacterales* a classificação se dá pela resistência a pelo menos um agente antimicrobiano em três ou mais categorias segundo o Quadro 2.

Todas as bactérias isoladas foram verificadas quanto a sua resistência em cada antimicrobiano utilizando como base os parâmetros numéricos do BrCast e classificadas como multirresistentes. No entanto, bactérias como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp., possuem quadros diferentes devido suas resistências intrínsecas.

**Quadro 2** - Categoria dos antimicrobianos para *Enterobacterales*

(Continua)

Categoria do Antimicrobiano	Agente Antimicrobianos*
Aminoglicosídeos	Gentamicina Tobramicina Amicacina Netilmicina
Carbapenêmicos	Ertapenem Imipenem Meropenem Doripenem

**Quadro 2** - Categoria dos antimicrobianos para *Enterobacteriales*

(Conclusão)

<b>Categoria do Antimicrobiano</b>	<b>Agente Antimicrobianos*</b>
Cefalosporinas de 1º e 2º Geração	Cefazolina Cefuroxima
Cefalosporinas de 3º e 4º Geração	Cefotaxima ou Ceftriaxona Ceftazidima Cefepime
Cefamicina	Cefoxitina Cefotetan
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacino
Inibidores do Ácido Fólico	Sulfametoxazol - Trimetoprima
Glicilciclina	Tigeciclina
Monobactâmicos	Aztreonam
Penicilinas	Ampicilina
Penicilinas e inibidores da beta-lactamase	Amoxicilina - ácido clavulânico ampicilina- sulbactam
Fenicóis	Cloranfenicol
Fosfomicinas	Fosfomicina
Polimixinas	Colistina
Tetraciclina	Tetraciclina Doxiciclina Minociclina

Fonte: Adaptado pela autora de Magiorakos *et al* (2012)

Legenda: \* Quando uma espécie apresenta resistência intrínseca a um agente antimicrobiano ou a toda a categoria, esse agente ou categoria deve ser removido da lista desta tabela antes da aplicação dos critérios para as definições e não deve ser contabilizado no cálculo do número de agentes ou categorias ao qual o isolado bacteriano não é suscetível.

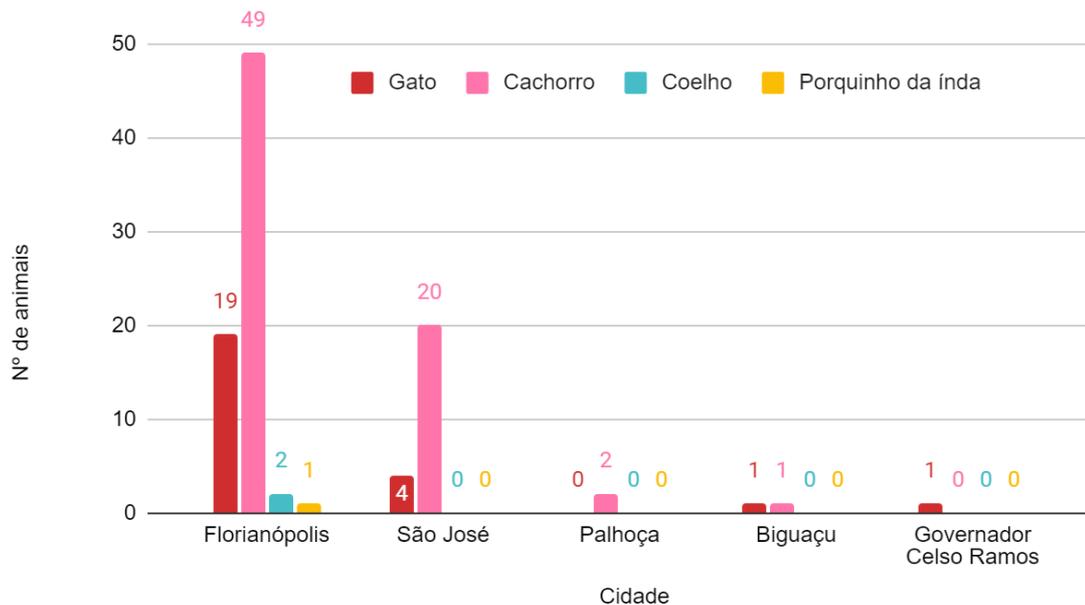
## 6. RESULTADOS

### 6.1 ANÁLISE DAS AMOSTRAS COLETADAS

Foram coletadas 100 amostras de fezes de animais provenientes das regiões da Grande Florianópolis (Figura 11), sendo que 71 dessas amostras foram provenientes do município de Florianópolis. Das espécies coletadas, verificou-se que 69,0% eram de cachorros (n=49), 26,7% eram de gatos (n=19), e 2,8% eram de coelhos (n=2), enquanto porquinho-da-índia foi igual a 1,4% (n=1), do total de amostras residentes na região, como representado na Figura 11. Os voluntários residentes da cidade de São José, totalizaram 24 amostras, entre elas de cachorros e gatos com um total de 83,3% (n=20) e 16,6% (n=4) respectivamente. Outros municípios como Palhoça e Biguaçu obtiveram duas amostras, sendo uma de gato e uma de cachorro, enquanto Governador Celso Ramos obteve uma amostra doada de fezes de gato.

Em relação ao local de moradia desses animais, cerca de 66,0% (n=66) residiam em apartamentos, enquanto 33,0% (n=33) moravam em casa. Sobre o hábito alimentar dos animais, cerca de 2% (n=2) comiam somente alimentos naturais, como frutas e carne, 43% (n=43) comiam ração e alimentos naturais e 53% (n=53) eram alimentados somente com ração específica.

Em relação a frequência de passeios, 67% (n=67), os tutores relataram frequentemente saírem com os seus animais diariamente, ou pelo menos algumas vezes na semanas, essa resposta foi mais comum em donos de cães (n=60).

**Figura 11** - Representação gráfica da quantidade de amostras *versus* a cidade de origem

Fonte: Elaborada pela autora (2023)

Ao total foram 72 amostras provenientes de cães, das quais 35 amostras de fêmeas (48,6%) e 37 amostras de machos (51,3%). Entre os gatos, o predomínio foi de machos, com total de 52,0% (n=13). Em coelhos houve uma distribuição igual entre os sexos, sendo um de cada. Por último, a amostra de porquinho-da-índia foi coletada de uma fêmea (Quadro 3).

**Quadro 3** - Número de animais por sexo e espécie

Animais de estimação	Fêmea	Macho	Total
Cachorro	35	37	72
Gato	12	13	25
Coelho	1	1	2
Porquinho-da-índia	1	0	1

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Em relação à saúde dos animais, em 38 deles foram reportados alguma doença, segundo seus tutores. Pelo menos 7,89% tiveram giardíase (n=3); 2,63% tinham leishmaniose

(n=1). Problemas dermatológicos como dermatites, sarna demodécica apresentaram-se em 21,05% dos casos (n=8); problemas do trato gastrointestinal, como gastroenterites, alterações hepáticas, gastrites obtiveram um total de 8 casos, totalizando 21,05%.

Dentre todos os animais que participaram da pesquisa, em 15% (n=15), os tutores relataram uso de algum antimicrobiano nos últimos seis meses.

Outro aspecto relevante a ser abordado é que houveram amostras doadas de animais cujos donos trabalhavam em hospital, totalizando 27 amostras (27,0%).

## 6.2 ANÁLISE DOS ISOLADOS

Durante os cinco meses de pesquisa, das 100 amostras coletadas de animais domésticos, obteve-se 32 isolados provenientes de 25 animais distintos e apresentaram resistência a algum beta-lactâmico (Quadro 4), dos quais 88,0% vieram de cachorros (n=22), 8,0% eram de gatos (n=2), e 4,0% eram de coelhos (n=1).

Além disso, diante da população de animais que utilizaram algum antimicrobiano nos últimos seis meses, sete deles tiveram bactérias resistentes isoladas das fezes, totalizando 46,6% dos animais que utilizaram algum antimicrobiano.

Dentre os isolados identificados, observou-se um predomínio de *Escherichia coli*, totalizando 65,6% (n=21). A segunda espécie de maior predominância foi a *Klebsiella pneumoniae*, com 9,30% (n=3). *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* foram encontradas em uma proporção de 6,30% (n=2) cada. *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter pittii* e *Enterobacter hormaechei* foram identificados apenas uma vez, totalizando 3,12% cada (Figura 12).

**Quadro 4** - Análise dos isolados provenientes do animal e seu histórico

(Continua)

Isolado	Espécie do animal	Sexo do animal	Hábito alimentar	Doença relatada	Uso de antimicrobianos	Espécie da bactéria
1	Cachorro	Fêmea	Ração e alimentos naturais	---	Não	<i>Escherichia coli</i>
2						<i>Escherichia coli</i>
3	Cachorro	Fêmea	Ração e alimentos naturais	---	Não	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Quadro 4 - Análise dos isolados provenientes do animal e seu histórico

(Continuação)

Isolado	Espécie do animal	Sexo do animal	Hábito alimentar	Doença relatada	Uso de antimicrobianos	Espécie da bactéria
4	Cachorro	Macho	Ração e alimentos naturais	---	Não	<i>Escherichia coli</i>
5						<i>Escherichia coli</i>
7	Cachorro	Fêmea	Ração específica	---	Não	<i>Escherichia coli</i>
8	Cachorro	Fêmea	Alimentos Naturais	Alterações hepáticas	Não	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
9	Cachorro	Macho	Ração específica	Anemia	Não	<i>Escherichia coli</i>
10	Gato	Fêmea	Ração específica	---	Não	<i>Escherichia coli</i>
11	Gato	Fêmea	Ração específica	---	Não	<i>Escherichia coli</i>
12	Cachorro	Macho	Ração e alimentos naturais	---	Não	<i>Escherichia coli</i>
13	Cachorro	Macho	Ração específica	Gastroenterite	Sim (Eritromicina)	<i>Escherichia coli</i>
14	Cachorro	Macho	Ração específica	Leishmaniose	Sim (Marbofloxacina)	<i>Escherichia coli</i>
15						<i>Pseudomonas putida</i>
16	Cachorro	Macho	Ração e alimentos naturais	Leptospirose	Não	<i>Escherichia coli</i>
17	Cachorro	Macho	Ração específica	---	Não	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
18						<i>Escherichia coli</i>
19	Cachorro	Fêmea	Ração específica	---	Sim (Metronidazol)	<i>Escherichia coli</i>

Quadro 4 - Análise dos isolados provenientes do animal e seu histórico

(Continuação)

Isolado	Espécie do animal	Sexo do animal	Hábito alimentar	Doença relatada	Uso de antimicrobianos	Espécie da bactéria
20	Cachorro	Fêmea	Alimentos naturais	Displasia do quadril e distúrbios gastrointestinais	Sim (Metronidazol)	<i>Escherichia coli</i>
21	Cachorro	Macho	Ração específica	---	Não	<i>Acinetobacter baumannii</i>
22	Coelho	Fêmea	Ração e alimentos naturais	----	Não	<i>Acinetobacter baumannii</i>
23						<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
24	Cachorro	Macho	Ração e alimentos naturais	---	Sim Sulfametoxazol+ Trimetoprim	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
25						<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
26	Cachorro	Fêmea	Ração e alimentos naturais	Dermatite alérgica	Sim (Cefalexina)	<i>Escherichia coli</i>
27	Cachorro	Macho	Ração específica	---	Sim Sulfametoxazol+ Trimetoprim	<i>Escherichia coli</i>
28						<i>Escherichia coli</i>
29	Cachorro	Macho	Ração Específica	Dermatite	Não	<i>Escherichia coli</i>
30	Cachorro	Macho	Ração e alimentos naturais	---	Não	<i>Escherichia coli</i>

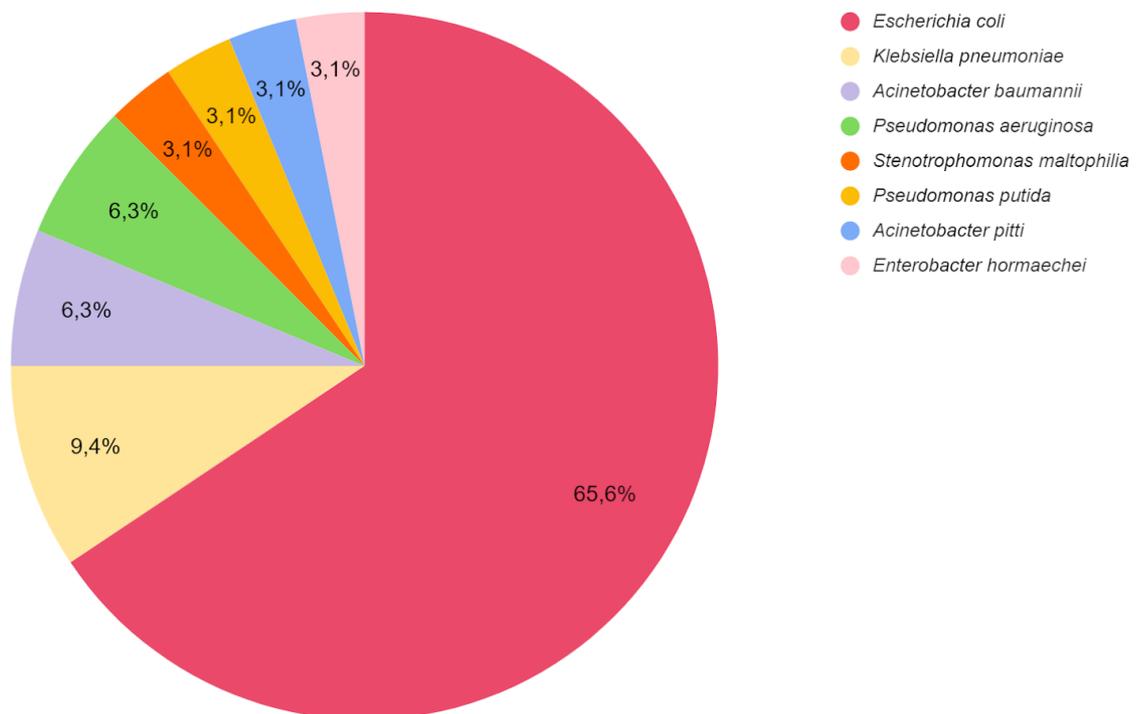
**Quadro 4 - Análise dos isolados provenientes do animal e seu histórico**

(Conclusão)

Isolado	Espécie do animal	Sexo do animal	Hábito alimentar	Doença relatada	Uso de antimicrobianos	Espécie da bactéria
31	Cachorro	Fêmea	Ração + Alimentos Naturais	---	Não	<i>Acinetobacter pittii</i>
32	Cachorro	Macho	Ração específica	Parvovirose	Não	<i>Enterobacter hormaechei</i>

Fonte: Elaborado pela autora (2023)

Legenda: “---” Não relatado.

**Figura 12 - Representação gráfica das espécies bacterianas identificadas**

Fonte: Elaborado pela autora (2023)

Os isolados da ordem das *Enterobacterales* (*E. coli*, *K. pneumoniae* e *E. hormaechei*) totalizaram 25 isolados. Eles apresentaram uma alta resistência aos antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos no teste de sensibilidade (Tabela 1).

A resistência às cefalosporinas de terceira geração, como ceftriaxona e ceftazidima, foi observada em 88,0% (n=22) e 84,0% (n=21), respectivamente, entre esses isolados. Entre

os isolados de *E. coli*, a porcentagem de resistência às cefalosporinas foi de 71,4%, 80,9% e 85,7% para cefepime, ceftazidima e ceftriaxona, respectivamente. Para *K. pneumoniae* e *E. hormaechei*, todos os isolados apresentaram resistência à ceftazidima e ceftriaxona. Já a taxa de resistência aos carbapenêmicos foi de 19,0% para os isolados de *E. coli*, enquanto as outras *Enterobacterales* apresentaram somente sensibilidade.

Entre a classe dos aminoglicosídeos, somente nas espécies de *E. coli* foi observado uma taxa de resistência de 33,3% tanto para gentamicina quanto para amicacina.

A taxa de resistência às fluoroquinolonas, representada pelo ciprofloxacino, foi de 47,6% para *E. coli*, 100% para *K. pneumoniae* e 100% para *E. hormaechei*. Por fim, a classe das tetraciclinas, o qual utilizou-se o disco de tetraciclina apresentou uma prevalência de 42,8%, 33,3% e 100% para os isolados de *E. coli*, *K. pneumoniae* e *E. hormaechei*, respectivamente.

Nos três isolados de *Pseudomonas* spp., observou-se sensibilidade aumentando exposição (I) ao cefepime, ceftazidima, aztreonam, ciprofloxacino em 100% dos isolados (n=3). Em relação ao meropenem, um isolado foi considerado sensível aumentando a exposição (33,0%), enquanto no caso do imipenem, dois isolados (66,0%) apresentaram sensibilidade ao aumento de exposição e um isolado (33,0%) foi classificado como resistente.

Quanto aos isolados de *Acinetobacter* spp., todos os três foram sensíveis aumentando a exposição ao ciprofloxacino (100%).

**Tabela 1** - Prevalência de resistência aos antimicrobianos testados por espécies de *Enterobacterales*

(Continua)

Antimicrobiano	<i>E. coli</i> (n=21)	<i>K. pneumoniae</i> (n=3)	<i>E. hormaechei</i> (n=1)	Total (n=25)
Amoxicilina + Ácido clavulânico	71,4% (n=15)	66,6% (n=2)	100% (n=1)	72,0% (n=18)
Cefepime	71,4% (n=15)	66,6% (n=2)	100% (n=1)	72,0% (n=18)
Ceftriaxona	85,7% (n=18)	100% (n=3)	100% (n=1)	88,0% (n=22)

**Tabela 1** - Prevalência de resistência aos antimicrobianos testados por espécies de *Enterobacteriales*

(Conclusão)

Antimicrobiano	<i>E.coli</i> (n=21)	<i>K. pneumoniae</i> (n=3)	<i>E. hormaechei</i> (n=1)	Total (n=25)
Ceftazidima	80,9% (n=17)	100% (n=3)	100% (n=1)	84,0% (n=21)
Aztreonam	71,4% (n=15)	100% (n=3)	100% (n=1)	76,0% (n=19)
Meropenem	0% (n=0)	0% (n=0)	0% (n=0)	0% (n=0)
Ertapenem	19,0% (n=4)	0% (n=0)	0% (n=0)	16,0% (n=4)
Impimenem	0% (n=0)	0% (n=0)	0% (n=0)	0% (n=0)
Ciprofloxacino	47,6% (n=10)	100% (n=3)	100% (n=1)	56,0% (n=14)
Tetraciclina	42,8% (n=9)	33,3% (n=1)	100% (n=1)	44,0% (n=11)
Gentamicina	33,3 (n=7)	0% (n=0)	0% (n=0)	28,0% (n=7)
Amicacina	33,3 (n=7)	0% (n=0)	0% (n=0)	28,0% (n=7)
Cefoxitina	28,5 (n=6)	0% (n=0)	100% (n=1)	28,0% (n=7)

Fonte: Elaborada pela autora (2023)

No teste de sensibilidade aos antimicrobianos, buscou-se a presença de halo fantasma pelo teste de disco-aproximação, o qual esteve presente em 20 isolados, totalizando 62,5% de prevalência, portanto apresentaram fenótipo condizente com ESBL. Além disso, pelo menos 22 isolados apresentaram um perfil MDR (Quadro 5), o que corresponde a 68,7% do total.

Quadro 5 - Resistências aos antimicrobianos dos isolados MDR

(Continua)

Espécie bacteriana	Antimicrobiano / Isolado	Categoria		Cefalosporinas de 3º e 4º Geração			Monobactâmicos	Carbapenêmicos			Fluorquinolonas	Tetraciclina	Aminoglicosídeos	Cefamicinas	ESBL	MDR
		Penicilinas + inibidores da beta-lactamase	AMC	FEP	CRO	CAZ	ATM	MER	ERT	IMP	CIP	TET	GEN	AK		
<i>Escherichia coli</i>	1	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	Não	Sim
<i>Escherichia coli</i>	2	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	S	Sim	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	S	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	4	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	5	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	R	Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	6	R	I	R	R	R	S	R	I	S	R	S	R	R	Não	Sim
<i>Escherichia coli</i>	7	R	R	R	R	R	S	S	I	I	R	R	S	S	Sim	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	R	I	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	Sim	Sim

Quadro 5 - Resistências aos antimicrobianos dos isolados MDR

(Continuação)

Espécie bacteriana	Antimicrobiano/ Isolado	Categoria		Penicilinas + inibidores da beta-lactamase		Cefalosporinas de 3º e 4º Geração				Monobactâmicos	Carbapenêmicos			Fluorquinolonas	Tetraciclina	Aminoglicosídeos	Cefamicinas	ESBL	MDR
		AMC	FEP	CRO	CAZ	ATM	MER	ERT	IMP	CIP	TET	GEN	AK	CFO					
<i>Escherichia coli</i>	9	R	R	R	R	R	S	S	S	I	R	S	S	S				Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	10	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R				Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	11	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S				Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	12	R	I	R	R	I	S	S	S	S	S	S	R	R				Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	13	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S				Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	14	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S				Não	Não
<i>Pseudomonas putida**</i>	15	---	I	---	I	I	S	---	I	I	---	---	S	---				Não	Não
<i>Escherichia coli</i>	16	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S				Sim	Sim

Quadro 5 - Resistências aos antimicrobianos dos isolados MDR

(Continuação)

Espécie bacteriana	Antimicrobiano/ Isolado	Categoria		Penicilinas + inibidores da beta-lactamase		Cefalosporinas de 3º e 4º Geração		Monobactâmicos	Carbapenêmicos			Fluorquinolonas	Tetraciclina	Aminoglicosídeos		Cefamicinas	ESBL	MDR
		AMC	FEP	CRO	CAZ	ATM	MER	ERT	IMP	CIP	TET	GEN	AK	CFO				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	Sim	Sim		
<i>Escherichia coli</i>	18	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	Não	Não		
<i>Escherichia coli</i>	19	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	Sim	Sim		
<i>Escherichia coli</i>	20	R	R	R	R	I	S	S	S	I	S	S	S	S	Sim	Não		
<i>Acinetobacter baumannii</i> ***	21	---	---	---	---	---	S	---	S	I	---	S	S	---	Não	Não		
<i>Acinetobacter baumannii</i> ***	22	---	---	---	---	---	S	---	S	I	---	S	S	---	Não	Não		

Quadro 5 - Resistências aos antimicrobianos dos isolados MDR

(Continuação)

Espécie bacteriana	Antimicrobiano/ Isolado	Penicilinas + inibidores da beta-lactamase		Cefalosporinas de 3 <sup>o</sup> e 4 <sup>o</sup> Geração		Monobactâmicos	Carbapenêmicos			Fluorquinolonas	Tetraciclina	Aminoglicosídeos		Cefamicinas	ESBL	MDR
		AMC	FEP	CRO	CAZ		ATM	MER	ERT			IMP	CIP			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> **	23	---	I	---	I	I	S	---	I	I	---	---	S	---	Não	Não
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> *	24	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> **	25	---	I	---	I	I	I	---	R	I	---	---	S	---	Não	Não
<i>Escherichia coli</i>	26	R	R	R	R	R	S	S	S	I	R	R	S	S	Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	27	R	R	R	I	I	S	S	S	R	S	S	R	R	Sim	Sim
<i>Escherichia coli</i>	28	R	I	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	Não	Sim
<i>Escherichia coli</i>	29	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	Sim	Sim

**Quadro 5 - Resistências aos antimicrobianos dos isolados MDR**

(Conclusão)

Espécie bacteriana	Antimicrobiano/ Isolado	Categoria				Monobactâmicos	Carbapenêmicos			Fluorquinolonas	Tetraciclina	Aminoglicosídeos		Cefamicinas	ESBL	MDR
		Penicilinas + inibidores da beta-lactamase	Cefalosporinas de 3º e 4º Geração		ATM		MER	ERT	IMP			GEN	AK			
		AMC	FEP	CRO	CAZ	ATM	MER	ERT	IMP	CIP	TET	GEN	AK	CFO	ESBL	MDR
<i>Escherichia coli</i>	30	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	Sim	Sim
<i>Acinetobacter pittii</i> ***	31	---	---	---	---	---	S	---	S	I	---	S	S	---	Não	Não
<i>Enterobacter hormaechei</i>	32	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	Sim	Sim

Fonte: Elaborado pela autora (2023)

Legenda: “---” Antimicrobianos não testados; (R) Isolados que apresentaram resistência no antibiograma segundo BrCast; (I) Sensível aumentando a exposição; (S) Isolado que apresentou sensibilidade no antibiograma. \*Bactéria que apresentou fenótipo positivo de carbapenemase no teste de Blue Carba. \*\* *Pseudomonas* spp. não pode ser classificadas pois não se testou antimicrobianos suficientes para a classificação segundo Magiorakos *et al* (2012). \*\*\* *Acinetobacter* spp. não pode ser classificada pois não se testou antimicrobianos suficientes para a classificação segundo Magiorakos *et al* (2012).

Em relação a prevalência de bactérias produtoras de ESBL e a classificação de resistência do tipo MDR entre as espécies de *Enterobacterales* (n=25), observou-se os seguintes resultados: para *Escherichia coli*, 64,0% foram identificadas como produtoras de ESBL (n=16) e 72% foram classificadas como MDR (n=18), *K. pneumoniae* apresentou uma prevalência de 12,0% tanto para ESBL (n=3) quanto para MDR (n=3). E no caso da espécie *Enterobacter hormaechei*, que possui apenas um isolado, observou-se fenótipo de ESBL e foi classificada como MDR. Então basicamente o perfil MDR pode ser explicado pela presença do fenótipo ESBL.

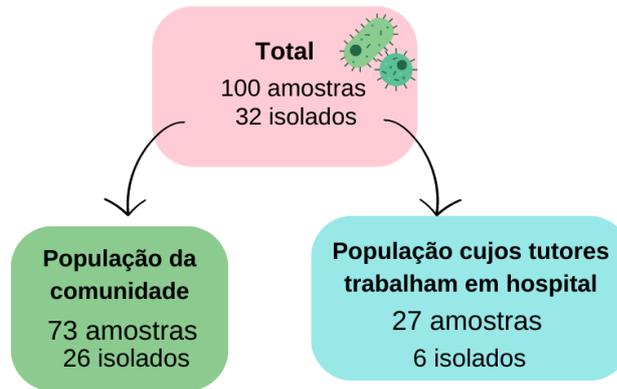
As espécies de *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., e *S. maltophilia* não foram classificadas como preconizado por Magiorakos *et al* (2012), pois não se testou antimicrobianos suficientes para essa classificação.

Comparando a origem dos isolados com alguma resistência, observou-se que aquelas provenientes de animais cujos donos trabalhavam em hospital, representaram 18,7% (n=6) do total de isolados, enquanto as provenientes da comunidade totalizaram 81,2% (n=26).

Foi possível comparar as origens dos isolados entre a população mencionada anteriormente e a população da comunidade (Figura 13), para se calcular a prevalência. Ela foi calculada pelo número de isolados da população estudada, dividido pelo total de amostras da população estudada, multiplicada por 100 para se ter um percentual. A medida relativa das duas populações permitiu uma comparação entre os dois grupos a fim de verificar a taxa de resistência bacteriana nessas populações.

Nesse caso a população “hospitalar” teve uma prevalência de bactérias resistentes aos beta-lactâmicos de amplo espectro de 22,2% (n=6/27), enquanto a da comunidade foi de 35,6% (n=26/73).

**Figura 13** - Representação esquemática das populações estudadas



Fonte: Elaborada pela autora (2023)

Em relação a detecção de fenótipo para carbapenemase, o isolado de *S. maltophilia* se mostrou positivo no teste de Blue Carba. No entanto, por apresentar resistência intrínseca a todos os carbapenêmicos, não se considerou a porcentagem positiva neste caso, totalizando 0% de isolados com fenótipo para carbapenemases (n=0).

## 7. DISCUSSÃO

A resistência aos antimicrobianos é um grande problema de saúde enfrentado pela humanidade, especialmente durante o século XXI. Para isso, faz-se necessário uma vigilância em saúde sob uma abordagem que compreenda os fatores multidisciplinares e multissetoriais da inter relação entre o ser humano, os animais e o ambiente, dentro dos conceitos de Saúde Única (HERNANDO-AMADO *et al*, 2019). Dessa forma, o presente estudo contribuiu para entender essa crescente prevalência de fenótipos de resistência nas bactérias colonizadoras do trato gastrointestinal de animais domésticos e evidenciar o quão intenso é a inter-relação dos mesmos neste ciclo que corrobora com a disseminação de bactérias multirresistentes.

Os resultados obtidos, a partir das 100 amostras coletadas, destacam o papel desses animais nesse ciclo, uma vez que eles podem estar colonizados por bactérias resistentes. Observou-se que 68% dos isolados identificados apresentaram multirresistência e em 62% foram detectadas enzimas do tipo ESBL. Esses resultados são consistentes com os testes de sensibilidade aos antimicrobianos executados, nos quais os isolados apresentaram maiores taxas de resistência para ceftriaxona e ceftazidima. Isso condiz com o fato que as enzimas do tipo ESBL conseguem degradar cefalosporinas de até terceira geração (BEVAN; JONES; HAWKEY, 2017).

Esse problema crescente da resistência bacteriana está atrelada, principalmente, à ordem das *Enterobacterales* (PITOUT, 2010). Segundo estudos realizados por Toombs-Ruane *et al* (2017) e Dolesjska e Papagiannitsis (2018), bactérias como *E. coli* e *K. pneumoniae*, que são encontradas no trato gastrointestinal de animais domésticos, relatam mais frequentemente a produção de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL).

Entre as espécies identificadas neste estudo, destaca-se a bactéria *Escherichia coli* com fenótipo ESBL, que esteve presente em 64% dos isolados de *Enterobacterales*. Esses dados entram em consonância com um estudo de Naziri, Poormaleknia e Oliyaei (2022), realizado no Irã, que verificou a prevalência de *E. coli* produtora de ESBL em fezes de cães e seus respectivos donos. Os autores relatam que a presença deste fenótipo em 71,4% dos isolados. Em outro estudo realizado por Abbas *et al* (2019), encontrou a espécie *E. coli* produtora de ESBL em 81,8% dos cães analisados.

É importante ressaltar que os isolados de *E. coli* apresentaram 47,6% de resistência às fluoroquinolonas. Estudos indicam que a presença de *E. coli* MDR resistente às fluorquinolonas, causadoras de infecções em animais, vem se tornando semelhantes às

bactérias da mesma espécie causadoras de infecções em humanos (GUO *et al*, 2013; POMBA *et al*, 2017).

Destaca-se que em uma meta-análise realizada em 2021, foram isoladas de fezes de animais domésticos no mundo, espécies de *E. coli*, produtoras de genes como, *bla*<sub>CTX-M-15</sub> e *bla*<sub>SHV-12</sub>. No continente americano, também foram descritos diferentes genes do tipo *bla*<sub>CTX-M</sub>, tais como, *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, *bla*<sub>CTX-M-2</sub>, *bla*<sub>CTX-M-3</sub>, *bla*<sub>CTX-M-14</sub>, *bla*<sub>CTX-M-15</sub> (SALGADO-CAXITO *et al*, 2021). No entanto, a comparação genotípica dos isolados não pode ser realizada devido a limitação de tempo no presente estudo, sendo necessário estudos que contemplem esse tipo de análise para entender melhor a disseminação molecular dos genes por bactérias contidas nesses animais.

A bactéria *Klebsiella pneumoniae*, representou 9,4% do total de isolados resistentes. Todos os isolados dessa espécie apresentaram fenótipo típico de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) e foram classificadas como multidroga resistentes, possivelmente elas podem estar expressando genes do tipo *bla*<sub>CTX-M</sub>, já encontrado nessa espécie de bactéria colonizando animais domésticos (MARQUES *et al*, 2019; GARCIA-FIERRO *et al*, 2022). Não foi observado resistência aos carbapenêmicos no teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Isso se mostra importante, já que essa espécie é comumente capaz de carrear genes do tipo *bla*<sub>KPC</sub> e *bla*<sub>NDM</sub>, responsáveis por codificar enzimas do tipo carbapenemases, presente em bactérias que causam infecções hospitalares em seres humanos (ANVISA, 2022).

*Stenotrophomonas maltophilia* é uma bactéria de grande importância clínica hospitalar, devido a sua característica de ser intrinsecamente resistente a vários antimicrobianos, principalmente aos carbapenêmicos, fazendo com que haja uma escassa opção de tratamento para este patógeno. Entre os mecanismos de resistência existentes, há a produção de bombas de efluxo, produção de enzimas beta-lactamases, e enzimas inativadoras de aminoglicosídeos. Pode-se salientar também, que essa bactéria é capaz de produzir biofilme que pode estar atrelado a sua gama de resistência (DIAS *et al*, 2020; GIL-GIL; MARTÍNEZ; BLANCO, 2020; OPLUSTIL *et al*, 2020). O resultado apresentado no estudo para essa bactéria é condizente com o que se relata na literatura, visto que esta bactéria foi a única a apresentar positividade no teste de Blue Carba. Logo, trata-se de um resultado esperado, pois essa espécie produz uma carbapenemase do tipo cromossomal (SAID; TIRTHANI; LESHU, 2023). Além disso, o animal cujo isolado provinha, utilizou um antimicrobiano da classe das sulfonamidas (sulfametoxazol + trimetoprim), que é um dos únicos medicamentos utilizados para o tratamento de infecções com essa bactéria, e que se apresenta geralmente sensível (ALBINI *et al.*, 2009). Nesse caso, novos testes devem ser

realizados para verificar a sensibilidade do isolado para os antimicrobianos da classe das sulfas, uma vez que os testes não foram incluídos no estudo atual.

Entre as bactérias Gram-negativas não fermentadoras identificadas no estudo, pode-se citar *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp., que são consideradas bactérias de importância clínica, por possuírem maior prevalência no ambiente hospitalar, além de uma maior taxa de resistência aos antimicrobianos (ANVISA, 2022). Neste estudo, foram isolados duas bactérias da espécie *Pseudomonas aeruginosa* e um isolado de *Pseudomonas putida*, e apresentaram em sua maioria serem sensíveis ao aumento de exposição aos antimicrobianos como: cefepime, ceftazidima, aztreonam e ciprofloxacino. No entanto, em um dos isolados observou-se a resistência ao imipenem, o que pode indicar uma redução na expressão de porinas e produção cromossômica de enzimas do tipo AmpC, já que não foram detectadas ESBL e carbapenemases fenotipicamente (SANTAJIT; INDRAWATTANA, 2016).

As bactérias do complexo *Acinetobacter baumannii* geralmente são produtoras de metalo-beta-lactamases codificadas pelo gene *bla<sub>IMP</sub>* e serino-beta-lactamases do tipo oxacilinas codificadas pelo gene *bla<sub>OXA</sub>*. No Brasil, essa espécie possui uma maior produção de enzimas do tipo OXA-23, isolados de amostras humanas (DE OLIVEIRA *et al.*, 2019; TAVARES *et al.*, 2019). Neste estudo não se pode verificar a presença de genes presentes nessas espécies, mas se observou halos indicando sensibilidade aumentando exposição ao ciprofloxacino, esses perfis já são conhecidos nessa espécie (DONALD *et al.*, 2000). É importante citar que essa bactéria possui alguns outros mecanismos de resistência, que explica sua ampla resistência aos antimicrobianos, como perda ou redução da expressão de porinas, superexpressão de bombas de efluxo e produção de biofilmes (FERNANDEZ-CUENCA *et al.*, 2015).

Foi observado uma menor prevalência de isolados provenientes de tutores que trabalhavam em hospitais em comparação com a população da comunidade. Contudo, a quantidade populacional “hospitalar” foi menor que a da comunidade, limitando a capacidade de se realizar uma comparação mais adequada entre as populações, o que pode ser considerado uma limitação deste estudo. Apesar dessa limitação, é importante salientar que, do total de isolados analisados, 18,2% correspondem a população “hospitalar”, isso sugere que trabalhadores hospitalares podem estar espalhando essas bactérias resistentes para os animais de estimação, já que no ambiente hospitalar há um intenso uso de antimicrobianos de amplo espectro que pode selecionar essas bactérias (MARTIN; BACHMAN, 2018; ITA *et al.*, 2022). Muitas bactérias resistentes presentes no hospital acabam residindo em superfícies, sapatos, roupas e objetos chegando até os trabalhadores, que por fim podem entrar em contato

com seus animais domésticos. Esse contato próximo que inclui carícias, lambidas podem favorecer a transmissão direta dessas bactérias ou a transferência de genes de resistência por transmissão horizontal. Nesses casos, os animais domésticos contribuem para a disseminação de bactérias resistentes eliminando-as por via fecal e aumentando essa propagação para o ambiente (GUARDABASSI; SCHWARZ; LLOYD, 2004). Entretanto, como a prevalência de bactérias MDR na comunidade também foi alta, não se pode subestimar a importância da colonização de humanos e animais fora do ambiente hospitalar na disseminação da resistência bacteriana.

Por fim, a população estudada, era composta majoritariamente por cachorros (72,0%), enquanto a maioria das bactérias resistentes isoladas também eram provenientes de cães (88,0%), isso mostra consistente com o fato dessa população ter maior contato com o ambiente externo nos passeios, entrar com maior frequência, em contato com outros animais e, portanto, estar mais frequentemente exposto às bactérias ambientais. Animais colonizados com bactérias resistentes podem acabar espalhando-as para o ambiente ao fazer suas necessidades em parques, ruas e quintais, possibilitando que outros animais acabem também colonizados por essas bactérias (DOLEJSKA; PAPADIANNITSIS, 2018). Além disso, não é possível afirmar que os donos desses animais também estavam colonizados com as mesmas espécies de bactérias e com os mesmos fenótipos de resistência, nesse caso é necessário que mais estudos sejam realizados para fornecer essas informações.

Portanto, esse estudo permitiu investigar a prevalência de bactérias resistentes colonizadoras do trato gastrointestinal de animais domésticos. Embora a concentração de *Enterobacterales* fosse esperada numa proporção maior neste estudo, achados como *S. maltophilia* evidenciaram que existe a necessidade de uma maior investigação em torno disso, para auxiliar no monitoramento ambiental.

## 8. CONCLUSÃO

O estudo demonstrou uma alta prevalência de bactérias resistentes aos beta-lactâmicos, ou seja, quase um quarto dos animais estavam colonizados por essas 32 bactérias isoladas. Cerca de 62,5% apresentaram fenótipo condizente com a presença de enzimas do tipo ESBL e nenhum fenótipo de carbapenemases foi encontrado. Identificou-se cerca de seis espécies diferentes de bactérias resistentes como: *E. coli* (n=21), *K. pneumoniae* (n=3), *Acinetobacter* spp., (n=3), *Pseudomonas* spp. (n=3), *S. maltophilia* (n=1) e *E. hormaechei* (n=1). É importante salientar que a maioria das espécies identificadas são consideradas patógenos de monitoramento hospitalar e possuem alta capacidade de adquirir resistência aos antimicrobianos (*Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*).

A identificação presuntiva dessas bactérias e sua caracterização fenotípica ressaltou que pode haver uma ampla variedade de genes existentes nessas bactérias, mas que é necessário mais estudos compilando dados que identifiquem esses mecanismos. Isso se mostra de extrema importância, já que o aumento da prevalência desses genes é algo crescente mundialmente e gera grandes dificuldades quando se trata do tratamento de pacientes infectados e hospitalizados.

Nesse sentido, o estudo serve de grande importância para o monitoramento ambiental dessas bactérias resistentes, trazendo mais evidências sobre a rede de conexão entre os humanos, animais e o ambiente, e como essas bactérias são capazes de se espalhar pelos locais e colonizar vários tipos de hospedeiros.

Diante dessas evidências, ressalta-se a importância da educação e conscientização da população quanto ao uso de antimicrobianos de uso humano e animal. A promoção de boas práticas de higiene, uso racional de antibióticos e adoção de estudos de controle epidemiológico dessas espécies de bactérias resistentes, que são medidas fundamentais para conter a disseminação dessas bactérias. Por fim, ressalta-se que, colonização bacteriana não é sinônimo de infecção, e a obtenção desses dados é um parâmetro valioso para entender a circulação da resistência bacteriana em animais e no ambiente. Essas informações podem direcionar estratégias de prevenção, controle e uso adequado de antimicrobianos tanto nos hospitais quanto na comunidade.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, Ghazanfar *et al.* High rates of CTX-M group-1 extended-spectrum  $\beta$ -lactamases producing *Escherichia coli* from pets and their owners in Faisalabad, Pakistan. **Infection And Drug Resistance**, [S.L.], v. 12, p. 571-578, mar. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/idr.s189884>.
- ALBINI, S. *et al.* *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from the airways of animals with chronic respiratory disease. **Schweizer Archiv Für Tierheilkunde**, [S.L.], v. 151, n. 7, p. 323-328, 1 jul. 2009. Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte. <http://dx.doi.org/10.1024/0036-7281.151.7.323>.
- ANTUNES, Nuno T. *et al.* Class D  $\beta$ -Lactamases: are they all carbapenemases?. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 58, n. 4, p. 2119-2125, abr. 2014. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.02522-13>.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde: Módulo 10 - Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2020.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **NOTA TÉCNICA Nº 01/2013: MEDIDAS DE PREVENÇÃO E CONTROLE DE INFECÇÕES POR ENTEROBACTÉRIAS MULTIRESISTENTES**. Brasília, 2013.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **NOTA TÉCNICA Nº 74/2022: Isolamento de bactérias multirresistentes, em especial dos bacilos Gram-negativos (BGN) produtores da metalo-beta-lactamase “New Delhi” (NDM), e coprodutores de enzimas relacionadas à resistência aos carbapenêmicos (KPC e NDM)**. Brasília, 2022.
- ASLAM, Bilal *et al.* Antibiotic Resistance: one health one world outlook. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [S.L.], v. 11, p. 1-20, 25 nov. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2021.771510>.
- ASSEF, Ana Paula D' Alincourt Carvalho; NETO, Orlando Carlos da Conceição. Bases moleculares da resistência bacteriana. *In*: ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE: Módulo 10: detecção dos principais mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos pelo laboratório de microbiologia clínica**. Brasília: Anvisa, 2020. Cap. 2. p. 17-28.
- BARBOSA, F. *et al.* Microbiota indígena do trato gastrointestinal. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Aracaju, v. 10, n. 1, p. 78-93, jan./jun. 2010.
- BEVAN, Edward R.; JONES, Annie M.; HAWKEY, Peter M.. Global epidemiology of CTX-M  $\beta$ -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 72, n. 8, p. 2145-2155, 25 maio 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkx146>.

BIOMÉRIEUX. **VITEK® MS**: sistema de identificação microbiana de espectrometria de massa. Sistema de identificação microbiana de espectrometria de massa. 2022. Disponível em: <https://www.biomerieux.com.br/produto/vitekr-ms>. Acesso em: 26 maio 2023.

BOURLIOUX, Pierre *et al.* The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the danone symposium “The intelligent intestine”, held in Paris, June 14, 2002. **The American Journal Of Clinical Nutrition**, [S.L.], v. 78, n. 4, p. 675-683, 1 out. 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Nota Técnica Nº 74/2022. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2022. Disponível em: [http://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/08/SEI\\_MS-0028220258-Nota-Tecnica-NDM-e-coproducao-carbapenemase.pdf](http://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/08/SEI_MS-0028220258-Nota-Tecnica-NDM-e-coproducao-carbapenemase.pdf). Acesso em: 25 out. 2022.

BrCAST, Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade Aos Antimicrobianos. **Tabela de pontos de cortes clínicos BrCast**. 2023. Disponível em: <http://brcast.org.br/>. Acesso em: 15 abr. 2023

BUSH, Karen; FISHER, Jed F.. Epidemiological Expansion, Structural Studies, and Clinical Challenges of New  $\beta$ -Lactamases from Gram-Negative Bacteria. **Annual Review Of Microbiology**, [S.L.], v. 65, n. 1, p. 455-478, 13 out. 2011. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-micro-090110-102911>.

BUSH, Karen. Past and Present Perspectives on  $\beta$ -Lactamases. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 62, n. 10, p. 1-20, out. 2018. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.01076-18>.

BUSH, Karen. Proliferation and significance of clinically relevant  $\beta$ -lactamases. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 1277, n. 1, p. 84-90, Jan. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/nyas.12023>.

CENTROS DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS (CDC). **One Health Basics**. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/onehealth/basics/index.html>. Acesso em: 25 nov. 2022.

CERQUEIRA, Ellayne Souza; ALMEIDA, Rogeria Comastri de Castro. *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) em alimentos de origem animal: uma revisão sistemática. **Rev Inst Adolfo Lutz**, Salvador, v. 4, n. 72, p. 268-281, 17 dez. 2013.

CHRISTAKI, Eirini; MARCOU, Markella; TOFARIDES, Andreas. Antimicrobial Resistance in Bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. **Journal Of Molecular Evolution**, [S.L.], v. 88, n. 1, p. 26-40, 28 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00239-019-09914-3>.

DAVIES, Julian; DAVIES, Dorothy. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, [S.L.], v. 74, n. 3, p. 417-433, set. 2010. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mnbr.00016-10>.

DE VOS, Willem M. *et al.* Gut microbiome and health: mechanistic insights. **Gut**, [S.L.], v. 71, n. 5, p. 1020-1032, 1 fev. 2022. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2021-326789>.

DIAS, Vanessa Cordeiro *et al.* Prevalência e resistência a antibióticos de *Stenotrophomonas maltophilia* em amostras clínicas: estudo epidemiológico de 10 anos. **Hu Revista**, [S.L.], v. 45, n. 4, p. 402-407, 14 fev. 2020. Universidade Federal de Juiz de Fora. <http://dx.doi.org/10.34019/1982-8047.2019.v45.27338>.

DONALD, Helen M. *et al.* Sequence Analysis of ARI-1, a Novel OXA  $\beta$ -Lactamase, Responsible for Imipenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 196-199, jan. 2000. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.44.1.196-199.2000>.

DOLEJSKA, Monika; PAPAGIANNITSIS, Costas C.. Plasmid-mediated resistance is going wild. **Plasmid**, [S.L.], v. 99, p. 99-111, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plasmid.2018.09.010>.

DUNNE, Colum. Adaptation of Bacteria to the Intestinal Niche: probiotics and gut disorder. **Inflammatory Bowel Diseases**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 136-145, maio 2001. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1097/00054725-200105000-00010>.

DUCARMON, Q. R. *et al.* Gut Microbiota and Colonization Resistance against Bacterial Enteric Infection. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, [S.L.], v. 83, n. 3, p. 1-29, 21 ago. 2019. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mmb.00007-19>

ECDC, Centro de Controle e Prevenção de Doença Europeu. **Surveillance of antimicrobial resistance in Europe, 2021 data**. [S.L.]: Organização Mundial da Saúde, 2022.

ESCUDEIRO, Pedro *et al.* Antibiotic Resistance Gene Diversity and Virulence Gene Diversity Are Correlated in Human Gut and Environmental Microbiomes. *Msphere*, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 1-13, 26 jun. 2019. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/msphere.00135-19>.

EUCAST, Comitê Europeu de Teste de Sensibilidade Aos Antimicrobianos. **EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance**. 2013. Disponível em: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Resistance\\_mechanisms/EUCAST\\_detection\\_of\\_resistance\\_mechanisms\\_v1.0\\_20131211.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_v1.0_20131211.pdf). Acesso em: 16 nov. 2022.

FERNÁNDEZ-CUENCA, Felipe *et al.* Reduced susceptibility to biocides in *Acinetobacter baumannii*: association with resistance to antimicrobials, epidemiological behaviour, biological cost and effect on the expression of genes encoding porins and efflux pumps. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 70, n. 12, p. 3222-3229, 10 set. 2015. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkv262>.

FRANCESCHINA, Carolina Schell *et al.* A colistina como promotor de crescimento na suinocultura: impactos na saúde pública. **Nutritime Revista Eletrônica**, Rio Grande do Sul, v. 16, n. 1, p. 8393-8399, fev. 2019.

- GARCIA-FIERRO, R *et al.* Comparative phylogenomics of ESBL-, AmpC- and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* originating from companion animals and humans. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 77, n. 5, p. 1263-1271, 28 fev. 2022. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkac041>.
- GIL-GIL, Teresa; MARTÍNEZ, José Luis; BLANCO, Paula. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*: a review of current knowledge. **Expert Review Of Anti-Infective Therapy**, [S.L.], v. 18, n. 4, p. 335-347, 21 fev. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14787210.2020.1730178>.
- GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. Guia de antimicrobianos em veterinária. Porto Alegre: Artmed, 2010. 268 p.
- GUARDABASSI, L.; SCHWARZ, Stefan; LLOYD, David H.. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria: review. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 54, n. 2, p. 321-332, 1 jul. 2004. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkh332>.
- GUARNER, Francisco; MALAGELADA, Juan-R. Gut flora in health and disease. *The Lancet*, [S.L.], v. 361, n. 9356, p. 512-519, fev. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)12489-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(03)12489-0).
- GUO, S. *et al.* Fluoroquinolone-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, including O25b-ST131, isolated from faeces of hospitalized dogs in an Australian veterinary referral centre. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 68, n. 5, p. 1025-1031, 8 jan. 2013. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dks515>.
- HARE, R. New light on the history of penicillin. *Medical History*, v. 26, n. 1, p. 1– 24, 1982.
- HERNANDO-AMADO, Sara *et al.* Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. **Nature Microbiology**, [S.L.], v. 4, n. 9, p. 1432-1442, 22 ago. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-019-0503-9>.
- HOLMES, Alison H *et al.* Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, [S.L.], v. 387, n. 10014, p. 176-187, jan. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)00473-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(15)00473-0).
- ISKANDAR, Katia *et al.* Drivers of Antibiotic Resistance Transmission in Low- and Middle-Income Countries from a “One Health” Perspective—A Review. **Antibiotics**, [S.L.], v. 9, n. 7, p. 372, 1 jul. 2020. MDPI AG.
- ITA, Teresa *et al.* Prevalence of colonization with multidrug-resistant bacteria in communities and hospitals in Kenya. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-9, 24 dez. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-022-26842-3>.
- JARLIER, V. *et al.* Extended Broad-Spectrum  $\beta$ -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer  $\beta$ -Lactam Agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and

susceptibility patterns. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 867-878, 1 jul. 1988. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/clinids/10.4.867>

KARAKONSTANTIS, Stamatis; KRITSOTAKIS, Evangelos I; GIKAS, Achilleas. Treatment options for *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* co-resistant to carbapenems, aminoglycosides, polymyxins and tigecycline: an approach based on the mechanisms of resistance to carbapenems. **Infection**, [S.L.], v. 48, n. 6, p. 835-851, 1 set. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

KONG, Kok-Fai; SCHNEPER, Lisa; MATHEE, Kalai. Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. **Apmis**, [S.L.], v. 118, n. 1, p. 1-36, jan. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2009.02563.x>.

KOPOTSA, Katlego; SEKYERE, John Osei; MBELLE, Nontombi Marylucy. Plasmid evolution in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a review. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 1457, n. 1, p. 61-91, 30 ago. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/nyas.14223>.

LARSSON, D. G. Joakim; FLACH, Carl-Fredrik. Antibiotic resistance in the environment. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 20, n. 5, p. 257-269, 4 nov. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>.

LIMA, Lidia Moreira *et al.*  $\beta$ -lactam antibiotics: an overview from a medicinal chemistry perspective. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 208, p. 112829, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112829>.

MAGIORAKOS, A. P. *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology And Infection**, [S.L.], v. 18, n. 3, p. 268-281, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 26, DE 9 DE JULHO DE 2009. Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, e comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. Brasília, p. 1-9, 10 jul. 2009.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 45, DE 22 DE NOVEMBRO DE 2016. Proibir, em todo o território nacional, a importação e a fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina, com a finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. Brasília, 22 nov. 2016

MARQUES, C *et al.* Evidence of Sharing of *Klebsiella pneumoniae* Strains between Healthy Companion Animals and Cohabiting Humans. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 57, n. 6, p. 1-12, jun. 2019. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.01537-18>.

MARTIN, Rebekah M.; BACHMAN, Michael A.. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**,

[S.L.], v. 8, p. 1-15, 22 jan. 2018. Frontiers Media SA.  
<http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004>.

MCEWEN, S.A.; COLLIGNON, P. J.. Antimicrobial Resistance: a one health perspective. **Microbiology Spectrum**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 1-26, 6 abr. 2018. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0009-2017>.

MORA-OCHOMOGO, Montserrat; LOHANS, Christopher T..  $\beta$ -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates. **Rsc Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 12, n. 10, p. 1623-1639, 2021. Royal Society of Chemistry (RSC).  
<http://dx.doi.org/10.1039/d1md00200g>.

MUGGEO, Anaëlle *et al.* Spread of *Klebsiella pneumoniae* ST395 non-susceptible to carbapenems and resistant to fluoroquinolones in North-Eastern France. **Journal Of Global Antimicrobial Resistance**, [S.L.], v. 13, p. 98-103, jun. 2018. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2017.10.023>.

NAZIRI, Zahra; POORMALEKNIA, Meisam; OLIYAEI, Azar Ghaedi. Risk of sharing resistant bacteria and/or resistance elements between dogs and their owners. **Bmc Veterinary Research**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 1-8, 27 maio 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12917-022-03298-1>.

OiE, World Organization For Animal Health. **Regra dos cinco "somentes"**. 2022. Disponível em:  
<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/publicacoes/CampanhaUsoRacionalRegra5somentesFiveOnlyRules.pdf> Acesso em: 22 de mai. 2023.

OLIVEIRA, Elaini Aparecida de *et al.* High rate of detection of OXA-23-producing *Acinetobacter* from two general hospitals in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 52, p. 1-5, 24 jul. 2019. FapUNIFESP (SciELO).  
<http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0243-2019>.

O'NEILL, J. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. *Review on Antimicrobial Resistance*, v. 1, p. 1–20, 2014.

OPLUSTIL, Carmem Paz *et al.* **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2020. 742 p.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **One Health**. 2022. Disponível em:  
<https://www.who.int/europe/initiatives/one-health>. Acesso em: 25 nov. 2022.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAS/OMS). **Resistência antimicrobiana**. 2021. Disponível em:  
<https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>. Acesso em: 22 out. 2022.

PALMA, Ernesto; TILOCCA, Bruno; RONCADA, Paola. Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine: an overview. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 1914, 11 mar. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21061914>.

PALMEIRO, J. K. Detecção de mecanismos de resistência segundo o BrCAST. **Oficina BrCAST – Curitiba**, 2019.

PENNA, F., & NICOLI, J. Influence of colostrum on normal bacterial colonization of the neonatal gastrointestinal tract. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre. v. 77 n. 4, p. 251-252, 2001.

PHILLIPS, I. *et al.* Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 28-52, 4 dez. 2003. Oxford University Press (OUP).  
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg483>.

PIRES, J.; NOVAIS, Â.; PEIXE, L.. Blue-Carba, an Easy Biochemical Test for Detection of Diverse Carbapenemase Producers Directly from Bacterial Cultures. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 51, n. 12, p. 4281-4283, dez. 2013. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.01634-13>.

PITOUT, J. D. D. *et al.* Modification of the Double-Disk Test for Detection of Enterobacteriaceae Producing Extended-Spectrum and AmpC  $\beta$ -Lactamases. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 41, n. 8, p. 3933-3935, ago. 2003. American Society for Microbiology.

POMBA, C *et al.* Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], p. 957-968, 5 dez. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkw481>.

PROCOP, Gary. W *et al.* **Konemam Diagnóstico Microbiológico Texto e Atlas**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

REGULA, G. *et al.* Prescription patterns of antimicrobials in veterinary practices in Switzerland. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 63, n. 4, p. 805-811, 17 fev. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkp009>.

ROUSHAM, Emily K.; UNICOMB, Leanne; ISLAM, Mohammad Aminul. Human, animal and environmental contributors to antibiotic resistance in low-resource settings: integrating behavioural, epidemiological and one health approaches. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [S.L.], v. 285, n. 1876, p. 20180332, 11 abr. 2018. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2018.0332>.

RUMI, María Valeria *et al.* Antimicrobial resistance in bacterial isolates from companion animals in Buenos Aires, Argentina: 2011-2017 retrospective study. **Zoonoses And Public Health**, [S.L.], v. 68, n. 5, p. 516-526, 8 maio 2021. Wiley.

SAAVEDRA, J.M. Probiotics and infectious diarrhea. **Amer. J. Gastroenterol.**, v. 95, p. 16-18, 2000.

SAID, Mina S.; TIRTHANI, Ekta; LESHU, Emil. *Stenotrophomonas Maltophilia*. 2023. StatPearls. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK572123/>. Acesso em: 11 jun. 2023

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*, [S.L.], v. 12, p. 100236, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100236>.

SANTAJIT, Sirijan; INDRAWATTANA, Nitaya. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Research International*, [S.L.], v. 2016, p. 1-8, 2016. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2475067>.

SAWA, Teiji; KOOGUCHI, Kunihiko; MORIYAMA, Kiyoshi. Molecular diversity of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *Journal Of Intensive Care*, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-13, 28 jan. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6>.

SORBARA, Matthew T. *et al.* Inhibiting antibiotic-resistant Enterobacteriaceae by microbiota-mediated intracellular acidification. *Journal Of Experimental Medicine*, [S.L.], v. 216, n. 1, p. 84-98, 18 dez. 2018. Rockefeller University Press. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20181639>.

TAVARES, Laís Calissi Brisolla *et al.* Emergence and Persistence of High-Risk Clones Among MDR and XDR *A. baumannii* at a Brazilian Teaching Hospital. *Frontiers In Microbiology*, [S.L.], v. 9, p. 1-8, 4 jan. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.02898>.

TOOKE, Catherine L. *et al.*  $\beta$ -Lactamases and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal Of Molecular Biology*, [S.L.], v. 431, n. 18, p. 3472-3500, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>.

TOOMBS-RUANE, L.J *et al.* Multidrug resistant Enterobacteriaceae in New Zealand: a current perspective. *New Zealand Veterinary Journal*, [S.L.], v. 65, n. 2, p. 62-70, 5 fev. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00480169.2016.1269621>.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. *Microbiologia*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VAN DEN BOGAARD, Anthony E.; STOBBERINGH, Ellen E.. Epidemiology of resistance to antibiotics Links between animals and humans. *International Journal Of Antimicrobial Agents*, Amsterdam, v. 4, n. 14, p. 327-335, 2000.

VOS, Willem M de *et al.* Gut microbiome and health: mechanistic insights. *Gut*, [S.L.], v. 71, n. 5, p. 1020-1032, 1 fev. 2022. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2021-326789>.

WALL, R *et al.* Role of Gut Microbiota in Early Infant Development. *Clinical Medicine. Pediatrics*, [S.L.], v. 3, p. 45-54, jan. 2009. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.4137/cmped.s2008>.

WEESE, J. Scott; VAN DUIJKEREN, Engeline. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, [S.L.], v. 140, n. 3-4, p. 418-429, jan. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.01.039>.

WHALEN, Karen; PANAVELIL, Thomas A.; FINKEL, Richard. **Farmacologia Ilustrada**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

WOOLHOUSE, Mark *et al.* Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. **Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [S.L.], v. 370, n. 1670, p. 20140083, 5 jun. 2015. The Royal Society.  
<http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2014.0083>.

## APÊNDICE A

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

**Título do projeto de pesquisa:** Bactérias Gram-negativas colonizadoras do trato gastrointestinal dos animais domésticos e seus fenótipos de resistência aos beta-lactâmicos.

**Pesquisador responsável:** Julia Garcez Melo

**Local de Pesquisa:** Laboratório Didático de Microbiologia Molecular Aplicada (MiMA) do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, vinculado à Universidade Federal de Santa Catarina

**Orientador da pesquisa:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Thaís Cristine Marques Sincero.

Você está sendo convidado (a) para ser participante do Projeto de pesquisa intitulado “Bactérias Gram-negativas colonizadoras do trato gastrointestinal dos animais domésticos e seus fenótipos de resistência aos beta-lactâmicos” de responsabilidade da pesquisadora Julia Garcez Melo.

A presente pesquisa atende todas as especificações da Resolução 466 de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte sobre qualquer dúvida que você tiver. Caso se sinta esclarecido (a) sobre as informações que estão neste Termo e aceite fazer parte do estudo, peço que assine ao final deste documento, em duas vias, sendo uma via sua e a outra do pesquisador responsável pela pesquisa. Saiba que você tem total direito de não querer participar.

1. O trabalho tem por objetivo a busca por bactérias resistentes aos antibióticos em fezes de animais domésticos;
2. A participação nesta pesquisa consistirá na doação das fezes de animais domésticos para pesquisa laboratorial de bactérias resistentes a antibióticos.
3. Durante a execução da pesquisa poderão ocorrer riscos e desconfortos mínimos relacionados à coleta, doação e o emprego de tempo para responder as perguntas referentes ao questionário da pesquisa. Os dados dos tutores serão usados somente para contato para a pesquisa referente, e não haverá identificação dos mesmos em relação às amostras coletadas.
4. Não há benefícios relacionados à participação nesta pesquisa.

5. Os participantes não terão nenhuma despesa ao participar da pesquisa e poderão retirar sua concordância na continuidade da pesquisa a qualquer momento.
6. Não há nenhum valor econômico a receber ou a pagar aos voluntários pela participação, no entanto, caso haja qualquer despesa decorrente desta participação haverá o seu ressarcimento pelos pesquisadores.
7. Caso ocorra algum dano comprovadamente decorrente da participação no estudo, os voluntários poderão pleitear indenização, segundo as determinações do Código Civil (Lei nº 10.406 de 2002) e das Resoluções 466/2012 e 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde.
8. Todas as informações coletadas na presente pesquisa serão mantidas em sigilo, assegurando assim a sua privacidade, e se desejarem terão livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que queiram saber antes, durante e depois da sua participação.
9. Os dados coletados serão utilizados única e exclusivamente, para fins desta pesquisa, e os resultados poderão ser publicados.

Qualquer dúvida, pedimos a gentileza de entrar em contato com Julia Garcez Melo, pesquisadora responsável pela pesquisa, telefone: (48) 99934-9502, e-mail: [garcejulia1003@gmail.com](mailto:garcejulia1003@gmail.com), com a responsável pela pesquisa Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Thaís Cristine Marques Sincero (48 991194896), com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFSC, localizado na Prédio Reitoria II R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701, Trindade, Florianópolis/SC CEP 88.040-400, telefone: (48) 3721-6094, e-mail: [cep.propesq@contato.ufsc.br](mailto:cep.propesq@contato.ufsc.br).

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_ declaro ter sido informado e concordo em ser participante do projeto de pesquisa acima descrito

Cidade: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

---

Assinatura do Participante

---

Assinatura do Pesquisador Responsável

## FICHA DO TUTOR

Bem-vindo(a)! Você está participando da pesquisa do Laboratório de Microbiologia Molecular Aplicada (MIMA - UFSC) sobre bactérias resistentes a antimicrobianos nas fezes de animais domésticos. Precisaremos de algumas informações sobre o seu pet para que a nossa análise seja feita assertivamente. Agradecemos a sua colaboração.

Nome do Tutor: \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

Contato: \_\_\_\_\_

Nome do animal de estimação: \_\_\_\_\_

Sexo do animal: ( ) Macho ( ) Fêmea

Idade do animal: \_\_\_\_\_

Espécie do animal: ( ) Cachorro ( ) Gato ( ) Coelho ( ) Pássaro ( ) Hamster

( ) Outro: \_\_\_\_\_

Local de Moradia: ( ) Casa ( ) Apartamento ( ) Outro: \_\_\_\_\_

Bairro em que o animal vive: \_\_\_\_\_

O animal de estimação tem acesso a rua? ( ) Sim ( ) Não

Com que frequência seu animal passeia? \_\_\_\_\_

Qual o hábito alimentar do animal?

- Ração específica
- Alimentos naturais
- Ração + Alimentos naturais.

O animal tem algum histórico de doença?  Não  Sim.

Se a resposta anterior foi sim, você sabe dizer qual a doença? \_\_\_\_\_

O animal fez uso de antibióticos nos últimos seis meses?  Não  Sim

Se a resposta anterior foi sim, você saberia dizer qual antibiótico foi utilizado?

\_\_\_\_\_