

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

**Fatores de virulência, filogrupos e sensibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli*
extraintestinal em cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG**

Brendhal Almeida Silva

BELO HORIZONTE

2022

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Fatores de virulência, filogrupos e sensibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* extraintestinal em cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG

Brendhal Almeida Silva

Dissertação apresentada ao Colegiado de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Otávio Silveira Silva

BELO HORIZONTE

2022

S586f

Silva, Brendhal Almeida, 1994-

Fatores de virulência, filogrupos e sensibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* extraintestinal em cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG / Brendhal Almeida Silva. – 2022.

80f.: il.

Orientador: Rodrigo Otávio Silveira Silva

Dissertação (Mestrado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva.

Bibliografias: f. 55 a 76.

1. Cães - Doenças - Teses - 2. Intestinos - Infecções - Teses - 3. Veterinária - Teses - I. Silva, Rodrigo Otávio Silveira - II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - III. Título.

CDD – 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

BRENDHAL ALMEIDA SILVA

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Medicina Veterinária Preventiva.

Aprovado(a) em 14 de fevereiro de 2022, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Rodrigo Otávio Silveira Silva - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Fernanda Morcatti Coura

Dr.(a). Francisco Carlos Faria Lobato



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Otavio Silveira Silva**, Professor do Magistério Superior, em 14/02/2022, às 11:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Francisco Carlos Faria Lobato**, Chefe de departamento, em 14/02/2022, às 15:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Morcatti Coura**, Usuário Externo, em 15/02/2022, às 19:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1223626** e o código CRC **9F780115**.

Juntamente com as exigências da vida, é o amor o que mais educa.
Sigmund Freud
(SE, XIV, 312)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me concedido o dom da vida, me guiando em todas dificuldades enfrentadas.

Aos meus pais, Gilmar e Maria do Carmo, por me apoiarem, dando sempre suporte, carinho, amor e confiança. Obrigado por acreditar na minha capacidade. Vocês terão sempre minha eterna gratidão.

À minha irmã, Pabla, pelo incentivo e força compartilhada. Agradeço por estar presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus sobrinhos, Kauã Mauro e Paolla, por serem sempre tão carinhosos comigo, sou muito feliz em ter vocês em minha vida. Titio ama vocês.

Ao Luís, meu namorado, companheiro e melhor amigo, palavras jamais serão suficientes para agradecer tudo que sinto. Obrigado pela compreensão, paciência e por ser sempre otimista em relação ao término dessa etapa em minha vida. Obrigado por mostrar que mesmo à distância, esteve sempre tão perto, pelo amor incondicional e por permanecer sempre ao meu lado.

Ao meu orientador, Rodrigo Otávio Silveira Silva, agradeço pela confiança em me orientar, pelas oportunidades, apoio, parceria e conhecimento compartilhado na consolidação desse trabalho.

Ao prof. Carlos Augusto Gomes Leal por ter cedido os isolados para a realização deste estudo.

Aos meus amigos da pós graduação, Amanda Nádia, Carolina Pantuzza, Diogo Soares, Flávia Viegas, Gabriela Muniz, Jordana Almeida e Rafael Gariglio, muito obrigado por todos os momentos no laboratório, pelo incentivo e apoio nos experimentos, sugestões, conselhos e muito bom humor que tornaram os dias de trabalho no laboratório mais divertidos.

A todos os meus amigos, em especial ao Matheus Soares, Salene Angelini, Sara Izabeliza, Dayana Ferreira, Junior Barbosa, Ana Caroline Moreira, Fernando Eliázar, Otávio Bergamini, Talita Modesto e Nayara Bontempo, vocês trouxeram mais alegria na minha vida principalmente nesse momento de distanciamento social. Agradeço por me incentivarem e proporcionar momentos incríveis nesses últimos dois anos.

A todos os meus familiares, por torcerem pelo meu sucesso.

À Universidade Federal de Minas Gerais e os docentes do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, obrigado pela participação significativa na minha formação.

À CAPES pela concessão da bolsa e pela disponibilidade de acesso ao Portal Periódico. Agradeço ainda, às outras instituições de fomento de fomento PRPq - UFMG, CNPq e FAPEMIG, por viabilizar financeiramente a realização das atividades.

Aos membros da banca examinadora, Francisco Lobato, Fernanda Coura e Guilherme Tavares, por se disponibilizarem a contribuir com este trabalho.

A todos, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

RESUMO

Escherichia coli é responsável por causar infecções intestinais e extraintestinais em seres humanos e animais. Dentre os diferentes patótipos de *E. coli*, as ExPEC (*Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli* ou *E. coli* patogênica extraintestinal) destacam-se por possuírem fatores de virulência que permitem a ocorrência de infecções em diversos sítios. Apesar da crescente importância desse patótipo, existem poucos trabalhos na literatura brasileira avaliando ExPEC isoladas de animais de companhia. Com isso, o objetivo deste estudo foi caracterizar estirpes de *E. coli* isoladas de quadros de infecção extraintestinal em cães quanto aos filogrupos, marcadores de virulência, sensibilidade antimicrobiana, bem como associar com as informações clínicas-epidemiológicas disponíveis. Um total de 50 estirpes de *E. coli* foram isoladas de amostras de urina (66% - 30/50), feridas cirúrgicas (26% - 13/50), otites (6% - 3/50) e outros sítios extraintestinais (8% 4/50) de cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) entre 2017 e 2019. Os dados extraídos dos prontuários revelaram que a maioria dos animais apresentavam aumento de ureia e creatinina (19/31-61%) e quase metade leucocitose (14/29 - 48%). O filogrupo B2 (66%) prevaleceu, enquanto os fatores de virulência *focG*, *fimH*, *cnf1* e *iutA* foram frequentemente detectados independente do sítio de infecção. Metade dos isolados foram classificados como multirresistentes (50% - 25/50), destacando-se a resistência a ampicilina (26/50 – 52%), sulfametoxazol (24/50 - 48%) e oxitetraciclina (24/50 - 48%). O filogrupo B2 apresentou menor proporção de estirpes resistentes quando comparado com os demais filogrupos. Além disso, 26% e 8% dos isolados foram positivos para beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e beta-lactamases AmpC (AmpC), respectivamente. A alta frequência de estirpes multirresistentes e produtoras de enzimas beta-lactamases sugere a epidemiologia de ExPEC isolados de animais de companhia no Brasil.

Palavras-chave: cães, extraintestinal, ESBL, AmpC, multiresistência

ABSTRACT

Escherichia coli is responsible for intestinal and extraintestinal infections in humans and animals. Among the different *E. coli* pathotypes, such as ExPEC (Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* or extraintestinal pathogenic *E. coli*) stand out for having virulence factors that allow the occurrence of infections in several sites. Despite the growing importance of this pathotype, there are few studies in the Brazilian literature evaluating ExPEC isolated from company animals. With that, the objective of this objective is to characterize the *E. coli* strains isolated in terms of extra infection tests in dogs, virulence markers, antimicrobial sensitivity, as well as studied with the available clinical-epidemiological information. A total of 50 *E. coli* estimates were isolated from urine samples (6% -30/50), integrated mixtures (26% -13/50), otitis (6% -3/50) and other extraintestinal sites (8 % -30/50) % 4/50) of dogs treated at the Veterinary Hospital of the Federal University of Minas Gerais (UFMG) between 2017 and 2019. The data obtained from the medical records presented that most animals showed an increase in urea and creatinine (19 /31-61%) and almost half leukocytosis (14/29 - 48%). Phylogroup B2 (66%) prevailed, while virulence factors focG, fimH, cnf1 and iutA were frequently observed regardless of the site of infection. Half of the isolates were classified as multidrug resistant (50% - 25/50), highlighting resistance to ampicillin (26/50 - 52%), sulfamethoxazole (24/50 - 48%) and oxytetracycline (24/50 - 48%). Phylogroup B2 showed a lower proportion of resistant strains when compared to the other phylogroups. In addition, 26% and 8% of the isolates were positive for extended-spectrum β -lactamases (ESBL) and AmpC (AmpC) β -lactamases, respectively. A high frequency of multidrug-resistant strains and β β -producing enzymes suggests the epidemiology of ExPEC isolated from company animals in Brazil.

Keywords: dogs, extraintestinal, ESBL, AmpC, multidrug resistance

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 Principais fatores de virulência de ExPEC. Adaptado de Dale e Woodford, 2015 | 21 |
| Tabela 2 - Classificação de β -Lactamases de acordo com os sistemas de classificação de Ambler e de Bush-Jacoby-Medeiros. Adaptado de Bush & Jacoby, 2010..... | 25 |
| Tabela 3 Relação dos números de isolados de <i>E. coli</i> extraintestinal de cães de acordo com o sítio de infecção | 33 |
| Tabela 4 Gene espécie-específico de <i>E. coli</i> , desenho dos iniciadores, tamanho do produto e referência bibliográfica. | 34 |
| Tabela 5 Genes pesquisados para determinação dos grupos filogenéticos e patotipos de <i>E. coli</i> , desenho de cada iniciador, tamanho dos produtos e referência bibliográfica.... | 35 |
| Tabela 6 Número de isolados e frequência (%) de filogrupos de <i>E. coli</i> extraintestinais de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG, Belo Horizonte, Brasil..... | 38 |
| Tabela 7 Número de isolados e frequência (%) de fatores de virulência de <i>E. coli</i> de cães baseado no sítio de infecção | 40 |
| Tabela 8 Perfil de virulência de 50 estirpes de <i>E. coli</i> extraintestinais isolados de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG, Belo Horizonte, Brasil, 2017-2019. | 41 |
| Tabela 9 Relação do perfil de sensibilidade antimicrobiana, grupo filogenético, genes de virulência e presença de enzimas β -lactamases ESBL e AmpC de 50 estirpes de <i>E. coli</i> extraintestinais de cães | 77 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 MLST em estipes de <i>E. coli</i> e sua relação entre os filogrupos em comparação com a estirpe referência de <i>E. fergusonii</i> . Imagem adaptada de Tenaillon <i>et al.</i> , (2010). | 19 |
| Figura 2 Fluxograma das etapas e metodologias empregadas para o alcance dos objetivos propostos..... | 32 |
| Figura 3 Frequência de filogrupos A, B1 e B2 de <i>E. coli</i> isolados em diferentes sítios de infecção de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG (2017-2019)..... | 39 |
| Figura 4 Prevalência geral de resistência antimicrobiana entre isolados clínicos de <i>E. coli</i> extraintestinal de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG de 2017 a 2019, em Belo Horizonte, Brasil. | 42 |
| Figura 6 Confirmação fenotípica da presença das enzimas β -lactamases de espectro estendido (ESBL) e β -lactamases AmpC (AmpC) isoladas de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG, Belo Horizonte, Brasil..... | 44 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|----------------|---|
| (H) | antígenos flagelares |
| (K) | antígenos capsulares |
| (O) | antígenos somáticos |
| °C | Graus Celsius |
| ALT | alanina aminotransferase |
| AMC | Amoxicilina + ácido clavulânico |
| AmpC | Beta-lactamase AmpC |
| AS | Ágar sangue |
| AST | aspartato aminotransferase |
| ATCC | American Type Culture Collection |
| CAZ | Ceftadizima |
| CC-DDS | sinergia de disco duplo de cefoxitina-cloxacilina |
| CFO | Cefoxitina |
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| cnf-1 | fator citotóxico necrosante tipo 1 |
| DEC | <i>E. coli</i> Diarreioências |
| DNA | ácido desoxirribonucleico |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| ESBL | Beta-lactamase de espectro estendido |
| ETEST | Epsilometer test |
| ExPEC | <i>E. coli</i> extraintestinal |
| fimH | fímbria Tipo 1 |
| focG | região central da fímbria tipo 1 |
| gadA/B | glutamato descarboxilase |
| hlyA | toxina α -hemolisina |
| IAL | Instituto Adolf Lutz |
| iutA | receptor de aerobactina |
| MC | MacConkey |
| MDR | Multiresistentes |
| MH | Muller Hinton |
| mm | milímetro |
| N | Número amostral |
| ng/ μ l | nanograma/microlitro |
| n° | número |
| p | valor p |
| papC | fímbria Tipo P |
| papG | fímbria Tipo P |
| pb | pares de bases |
| PCR | Reação de cadeia polimerase |
| pH | Potencial Hidrogênico |
| sfas | fímbria Tipo S |
| traT | proteína de conjugação |
| TspE4.C2 | fragmento de DNA |
| TZ/TZL | ceftazidima acrescida de ácido clavulânico |
| UFMG | Universidade Federal de Minas Gerais |
| USA | Estados Unidos da América |

| | |
|-------|-----------------------------------|
| usp | proteína uropatogênica específica |
| UTI | Unidade de Terapia Intensiva |
| UV | Ultravioleta |
| µg | micrograma |
| µg/µL | micrograma/microlitro |
| µm | micrómetro |

SUMÁRIO

| | | |
|---|---|----|
| 1 | Introdução..... | 14 |
| 2 | Objetivos..... | 16 |
| | 2.1 Objetivos gerais | 16 |
| | 2.2 Objetivos específicos | 16 |
| 3 | Revisão de Literatura..... | 17 |
| | 3.1 Aspectos gerais de <i>Escherichia coli</i> | 17 |
| | 3.2 Técnicas de classificação molecular de <i>Escherichia coli</i> | 17 |
| | 3.2.1 Sorotipagem | 17 |
| | 3.2.2 Filogrupos..... | 18 |
| | 3.2.3 Patotipos e fatores de virulência..... | 20 |
| | 3.3 Resistência antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i> | 22 |
| | 3.3.1 Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL)..... | 23 |
| | 3.3.2 β-lactamases AmpC | 27 |
| | 3.4 Infecção de <i>Escherichia coli</i> em cães | 28 |
| 4 | Material e Métodos..... | 32 |
| | 4.1 Amostras e dados clínico-epidemiológicos | 32 |
| | 4.2 Confirmação da identidade | 33 |
| | 4.3 Filogrupo e fatores de virulência | 34 |
| | 4.4 Sensibilidade antimicrobiana | 36 |
| | 4.4.1 Disco difusão..... | 36 |
| | 4.4.2 β-lactamases de espectro estendido (ESBL) | 36 |
| | 4.4.3 β-lactamases AmpC | 37 |
| | 4.5 Análises estatísticas | 37 |
| 5 | Resultados..... | 38 |
| | 5.1.1 Amostragem | 38 |
| | 5.1.2 Filogrupos..... | 38 |
| | 5.1.3 Genes de virulência | 39 |
| | 5.1.4 Resistência antimicrobiana..... | 41 |
| | 5.1.5 β-lactamases de espectro estendido e β-lactamases AmpC..... | 42 |
| 6 | Discussão..... | 45 |
| 7 | Conclusão | 54 |
| 8 | Referências Bibliográficas..... | 55 |
| 9 | Apêndice..... | 77 |
| | ANEXO A | 80 |

1 INTRODUÇÃO

Escherichia coli é uma espécie bacteriana bastante diversa, sendo caracterizada em estirpes comensais da microbiota intestinal e estirpes patogênicas intestinais e extraintestinais (JOHNSON; RUSSO, 2005; PITOUT, 2012). É um patógeno oportunista e pode estar relacionado a uma variedade de infecções graves em seres humanos e animais (THOMPSON et al., 2011). As estirpes patogênicas relacionadas a infecções entéricas são denominadas *E. coli* Diarreio gênicas (DEC) e as estirpes patogênicas associadas a infecções fora do trato intestinal, são denominadas *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) (NATARO; KAPER, 1998; PITOUT, 2012).

As infecções causadas por ExPEC apresentam diferentes genes de virulência, que variam de acordo com a presença de fatores de virulência que confere a esse grupo a capacidade de colonizar sítios fora do intestino do hospedeiro (SIQUEIRA et al., 2009; OSUGUI et al., 2014; MANGES et al., 2019). Adicionalmente aos genes de virulência, diferentes grupos filogenéticos podem estar associados à patogenicidade desse microrganismo. Atualmente, os isolados de *E. coli* podem ser classificados em nove grupos filogenéticos (A, B1, B2, C, D, E, F e G) e em um clado I (CLERMONT et al., 2013).

Além da capacidade de causar infecções intestinais e extraintestinais, destaca-se a resistência antimicrobiana de *E. coli*. Nos últimos anos, o aumento da resistência antimicrobiana em hospitais e na comunidade tornou-se um grande problema de saúde pública (UKAH et al., 2018). Estima-se que, devido à falha do tratamento com antimicrobianos, o número de mortes por infecções bacterianas chega a 700.000 indivíduos a cada ano, com potencial para alcançar mais de 2,5 milhões de pessoas por ano a partir de 2050 (IACG, 2019). Nesse contexto, têm crescido os relatos de isolamento de estirpes de *E. coli* multirresistentes em animais, incluindo estirpes ExPEC, principalmente no ambiente hospitalar veterinário (EWERS et al., 2014; LIU; THUNGRAT; BOOTHE, 2016; FLAMENT-SIMON et al., 2020).

A crescente ocorrência de estirpes multirresistentes pressiona pelo controle de antimicrobianos criticamente importantes que, idealmente, deveriam ser reservados exclusivamente para o tratamento de seres humanos (OSUGUI et al., 2014; FLORES-MIRELES et al., 2015; LIU; THUNGRAT; BOOTHE, 2016). Com isso, a literatura científica têm chamado atenção para necessidade de mais estudos que permitam um melhor manejo de infecções em ambientes clínicos (COQUE; BAQUERO; CANTON, 2008; DOLEJSKA et al., 2013).

Entre os isolados multirresistentes, chamam atenção as bactérias produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) e/ou AmpC. Até recentemente as bactérias produtoras de ESBL/AmpC eram observadas quase que exclusivamente na medicina humana. Entretanto, diversos estudos, têm mostrado a presença dessas enzimas em animais de diferentes espécies, incluindo cães (SUN et al., 2010; MÜNCH; WOCHENSCHR; GRAM-, 2011; WIELER et al., 2011). A similaridade genética entre os isolados de seres humanos e animais levou à hipótese que cães possam agir como fonte de infecção ou mesmo reservatórios para a disseminação desses elementos móveis (GUARDABASSI, 2004; REEVES et al., 2011; VAN DEN BUNT et al., 2020). A resistência causada por essas enzimas pode resultar na redução da eficácia ou na falha da terapia antimicrobiana. Infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL têm sido associadas a aumentos de morbidade, mortalidade, tempo de permanência no hospital e das despesas hospitalares (PITOUT, 2010).

Apesar da conhecida importância da *E. coli* na clínica de pequenos animais e na saúde pública, ainda são limitadas as informações sobre *E. coli* extraintestinal isoladas de pequenos animais no Brasil, incluindo questões relacionadas a epidemiologia molecular e resistência antimicrobiana dos isolados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Identificar a frequência dos grupos filogenéticos e fatores de virulência e avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana, de estirpes de *E. coli* isoladas de sítios extraintestinais de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG.

2.2 Objetivos específicos

- I. Identificar os genes de virulência de *E. coli* associadas a infecções extraintestinais em cães;
- II. Identificar os filogrupos de *E. coli* associadas a infecções extraintestinais de cães;
- III. Avaliar a sensibilidade antimicrobiana dos isolados de *E. coli* frente aos principais antimicrobianos utilizados em seres humanos e animais;
- IV. Identificar a presença de isolados de *E. coli* produtora das enzimas ESBL e/ou AmpC;
- V. Avaliar associações entre fatores de virulência, filogrupos, resistência antimicrobiana e dados clínico-epidemiológicos dos animais.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais de *Escherichia coli*

Escherichia coli pertence à família Enterobacteriaceae e filo Proteobactéria, é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo, com variantes móveis e imóveis (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). Foi descrita pela primeira vez em 1885 após ser isolada de fezes de crianças recém-nascidas (ESCHERICH, 1988; CHAUDHURI; HENDERSON, 2012). Naquela época, a bactéria recebeu o nome de *Bacterium coli* devido a morfologia, um bastão curto, e em 1919, após uma revisão de literatura, foi renomeada em referência ao pesquisador que a descobriu (CHEN; FRANKEL, 2005). São consideradas mesófilas, sendo capaz de crescer em temperatura entre 18 °C a 44 °C, sendo 37 °C sua temperatura ideal. Seu tamanho pode variar de 1,1 µm a 1,5 µm por 2 µm a 6 µm com característica de colônias lisas, rugosas ou mucoides (SHIN; WHON; BAE, 2015).

A espécie bacteriana pode ser dividida em dois grandes grupos: comensal e patogênico. O primeiro grupo é constituído por amostras pertencentes à microbiota intestinal de seres humanos e animais. As patogênicas possuem mecanismos de virulência e patogenicidade específicos, sendo capazes de causar infecções em diferentes hospedeiros e sítios de infecção. Algumas estirpes destacam-se como importantes causadoras de infecções intestinais, sendo nomeadas estirpes diarreio gênicas ou *E. coli* patogênica intestinal (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; CROXEN; FINLAY, 2010).

Outros sítios do hospedeiro também podem ser acometidos por este patógeno, causando quadros diversos como infecções no trato genito-urinário, infecções de feridas ou até infecções sistêmicas graves (ALKESKAS et al., 2015; ZOGG et al., 2018b; KIDSLEY et al., 2020). Tais casos são comumente causados por estirpes conhecidas como *E. coli* patogênica extraintestinal ou ExPEC (MANGES et al., 2019).

3.2 Técnicas de classificação sorológica e molecular de *Escherichia coli*

3.2.1 Sorotipagem

Com intuito de entender melhor a dinâmica epidemiológica de *E. coli* nos diferentes quadros de colonização e infecção causadas por esse agente, diversas técnicas de classificação têm sido utilizadas (CLERMONT; GORDON; DENAMUR, 2015). Isolados de *E. coli* podem

ser classificados de acordo com os sorotipos de antígenos que apresentam. Os métodos de sorotipagem mais comumente usados para este patógeno incluem a pesquisa de antígenos somáticos (O), uma cadeia de polissacarídeo termoestável presente na parede externa das bactérias gram-negativas; antígenos flagelares (H), uma cadeia de natureza proteica e termolábil; e antígenos capsulares (K), referentes aos polissacarídeos que envolvem a parede celular (KAUFFMANN, 1947; FRATAMICO et al., 2016).

No Brasil, as amostras de *E. coli* são sorotipadas pelo laboratório de referência Instituto Adolf Lutz (IAL) que recebe isolados clínicos de vários laboratórios de saúde pública para identificar e caracterizar a espécie em sorotipos (ORI et al., 2019). Embora a sorotipagem permita estabelecer certa associação epidemiológica, não é suficiente para caracterizar estirpes patogênicas de *E. coli*. Logo, tem crescido o uso de técnicas moleculares para detectar fatores de virulência relacionados a infecções em seres humanos e animais (LEIMBACH; HACKER; DOBRINDT, 2013).

3.2.2 Filogrupos

Ao longo da escala evolutiva, no contexto de heterogeneidade genética, houve a formação de diferentes clones de *E. coli*, devido à aquisição ou à perda de elementos genéticos. Essa constatação só foi possível com o advento de técnicas de biologia molecular mais sofisticadas, como o sequenciamento genético permitindo análises filogenéticas, muito importantes para o reconhecimento da origem e distribuição de linhagens de *E. coli*.

Atualmente, são descritos nove filos de *E. coli* A, B1, B2, C, D, E, F, G e clado I (CLERMONT et al., 2013, 2019; SAROWSKA et al., 2019) (Figura 1). Estirpes comensais normalmente são agrupadas nos filogrupos A, B1 e C, enquanto as linhagens associadas a infecções intestinais pertencem sobretudo ao filogrupo B2 e em menor frequência aos filogrupos D, E ou F (CLERMONT et al., 2013). Já a maioria das ExPEC pertencem ao grupo B2, enquanto estirpes do filogrupo D são eventualmente isoladas de sítios extraintestinais e normalmente apresentam menos fatores de virulência. Além disso, estas estirpes extraintestinais podem apresentar uma combinação diversa desses fatores (TRAMUTA et al., 2011). De acordo com Picard et al. (1999), uma possível explicação da associação da virulência com a filogenia é dada pela hipótese de que alguns determinantes de virulência dependem de um grupo filogenético específico para expressão de patogenicidade.

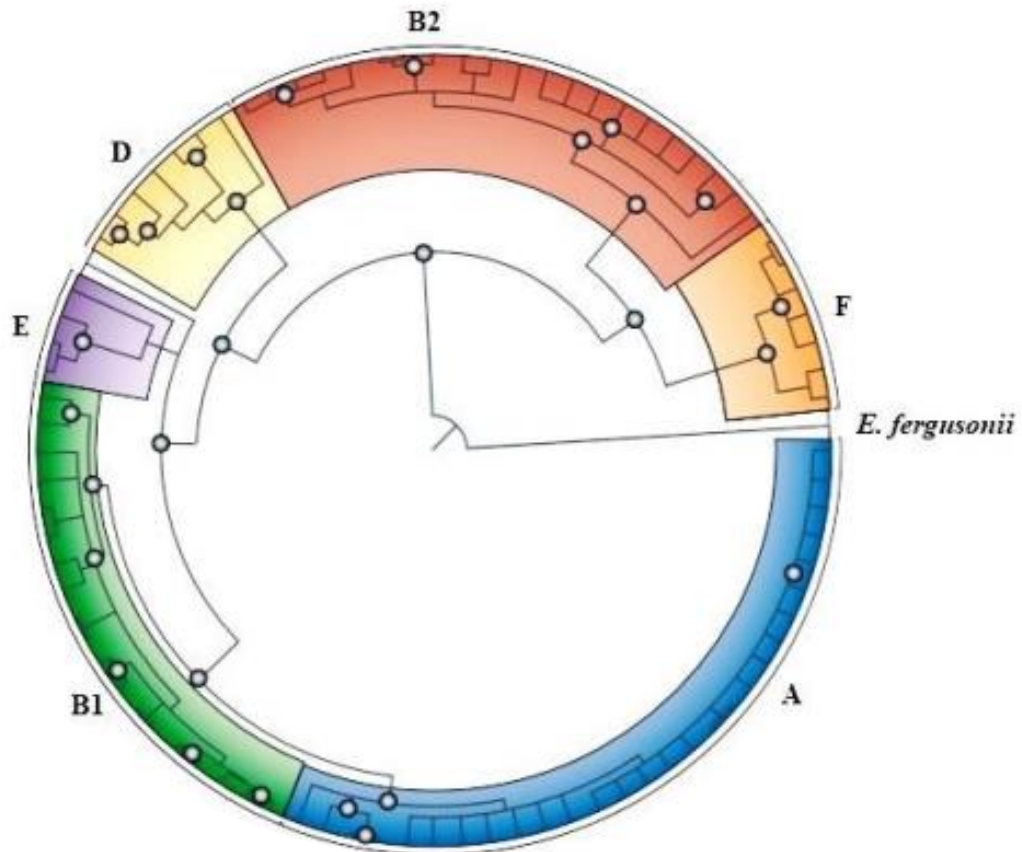


Figura 1 MLST em estirpes de *E. coli* e sua relação entre os filogrupos em comparação com a estirpe referência de *E. fergusonii*. Imagem adaptada de Tenaillon *et al.*, (2010).

ExPECs possuem fatores de virulência que permitem colonizar, invadir e escapar do sistema imune do hospedeiro (HUTTON *et al.*, 2018). Apesar de não existir uma característica única para definir um organismo como ExPEC, a associação de fatores de virulência é utilizado para classificar essas estirpes (KÖHLER; DOBRINDT, 2011). Alguns autores sugerem que para classificar um isolado como ExPEC é necessário a associação de determinados genes de virulência considerados marcadores para causar infecção (JOHNSON; STELL, 2000; GUARDABASSI, 2004).

Embora os genes de virulência possam variar entre os filogrupos, a maioria dos isolados com maior grau de virulência pertencem principalmente ao filogrupos B2 (VALAT *et al.*, 2020). Por outro lado, dados recentes mostraram que os filogrupos A e B1 estão mais frequentemente relacionados à resistência bacteriana, sugerindo que esse fenômeno pode estar relacionado ao fato de que estirpes resistentes podem ser originárias de populações menos virulentas (EWERS *et al.*, 2014; OSUGUI *et al.*, 2014).

3.2.3 Patotipos e fatores de virulência

As estirpes de *E. coli* que não causam infecções no hospedeiro, são chamadas de comensais. Em contrapartida, clones altamente adaptados possuem fatores de virulência variados que conferem a habilidade e colonização de novos sítios. Essas estirpes capazes de provocar doença são classificadas em patotipos e podem ser divididas em patogênicas intestinais e extraintestinais (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; PITOUT, 2012).

Estirpes relacionadas às manifestações clínicas entéricas ou diarreio gênicas são denominadas como *E. coli* diarreio gênicas (DEC), divididas em sete categorias: *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); *E. coli* enteroinvasora (EIEC); *E. coli* produtoras da toxina de Shiga (STEC), das quais a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) constituem um subtipo; *E. coli* enteroagregativa (EAEC); e *E. coli* que adere difusamente (DAEC) (NATARO; KAPER, 1998).

Já as estirpes de *E. coli* extraintestinal (ExPEC) são aptas a disseminar-se e colonizar outros sítios do hospedeiro e se dividem em: UPEC (*E. coli* Uropatogênica), NMEC (*E. coli* associada à Meningite Neonatal), SEC (*E. coli* Septicêmica) NSEC (*E. coli* Septicêmica Neonatal) e APEC (*E. coli* Patogênica para Aves) (SMITH; FRATAMICO; GUNTHER, 2007; PITOUT, 2012).

O grupo ExPEC contém uma estrutura filogenética complexa, com uma variedade de fatores de virulência que permitem a colonização de bactérias em diferentes ambientes extraintestinais (Tabela 1) (TERLIZZI; GRIBAUDO; MAFFEI, 2017; SAROWSKA et al., 2019; KIDSLEY et al., 2020). A identificação de fatores de virulência relacionados a doenças e à aplicação de métodos moleculares têm sido usados para determinar a relação genética e a estrutura clonal de amostras.

Os fatores de virulência associados a ExPEC são altamente diversos e são localizados no cromossomo bacteriano, ilhas de patogenicidade, plasmídeos e outros elementos móveis. Dentre os genes contidos nessas regiões, destacam-se os grupos de adesinas, toxinas, sistemas de aquisição de ferro, produção de cápsulas e invasinas (RON, 2010; KÖHLER; DOBRINDT, 2011; DALE; WOODFORD, 2015).

Tabela 1 Principais fatores de virulência de ExPEC. Adaptado de Dale e Woodford, 2015

| | Fator de virulência | Gene(s) codificadores(s) |
|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| Adesinas | Fímbria tipo 1 | <i>fimH</i> |
| | Região central da fímbria tipo 1 | <i>focG</i> |
| | Fímbria tipo P | <i>papC</i> |
| | Fímbria tipo P | <i>papG</i> |
| | Fímbria tipo S | <i>sfa/sfaS</i> |
| Toxinas | Fator citotóxico necrosante tipo 1 | <i>cnf1</i> |
| | Toxinas α -hemolisina | <i>hlyA</i> |
| | Proteína uropatogênica específica | <i>usp</i> |
| Sistema de aquisição de ferro | Receptor de aerobactina | <i>iutA</i> |
| Protectinas | Proteína de conjugação | <i>traT</i> |

Entre os fatores de virulência das ExPECs, as adesinas são consideradas indispensáveis para que ocorra infecção, já que são responsáveis pela adesão às células epiteliais dos diversos sítios colonizados e por estimular a produção de citocinas pelas células T (SAROWSKA et al., 2019). A adesão permite ainda a liberação de suas toxinas diversas nos tecidos dos hospedeiros (MULVEY, 2002), tais como a hemolisina (*hlyA*), o fator citotóxico necrosante tipo 1 (*cnf1*) e a proteína uropatogênica específica (*usp*), que promovem a destruição celular (SOUSA, 2006; DALE; WOODFORD, 2015).

Além das adesinas e das toxinas, existem fatores de virulência que auxiliam as ExPEC a escaparem do sistema imune dos hospedeiros, como a resistência à ação lítica do complemento pela produção da proteína de membrana externa (*traT*), por exemplo (JOHNSON; STELL, 2000; JOHNSON; RUSSO, 2005). A invasão de *E. coli* pode ser facilitada ainda por sistemas especializados de aquisição de ferro chamados sideróforos, que permitem o crescimento bacteriano em ambientes com baixa concentração desse micronutriente, uma vez que a sua deficiência pode comprometer sua função celular (CHERAYIL, 2011; SAVIOLLI et al., 2016).

Embora a expressão de um único gene não seja capaz de causar doença, a associação de um conjunto desses podem representar uma maior patogenicidade (KRAWCZYK et al., 2015). Os fatores de virulência possuem expressão variável, e por essa razão, a identificação do gene requer uma abordagem mais ampla, com associação a sítios específicos de infecções, uma vez que existem genes onipresentes em bactérias com diferenças entre as linhagens comensais e patogênicas. Por exemplo, o operon *fim* aparece em quase todas *E. coli* bem como outros

gêneros de Enterobacteriaceae. No entanto, sua especificidade requer um receptor da molécula de adesina *fimH* (JOHNSON; RUSSO, 2002).

A detecção de fatores de virulência é de extrema importância para identificar características específicas que, por sua vez, podem explicar a patogenia das doenças extraintestinais e intestinais. A caracterização de estirpes ExPEC pode auxiliar na definição de estratégias para entender, controlar e evitar essas infecções (SAROWSKA et al., 2019).

3.3 Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli*

Desde o surgimento dos antimicrobianos em meados do século XX, esses têm sido frequentemente utilizados na redução da morbidade e mortalidade de uma série de infecções em seres humanos e animais, assim como para promoção do crescimento e ganho de peso de espécies de produção (GUARDABASSI; KRUSE, 2008; BOERLIN; WHITE, 2013). Especificamente em hospitais e clínicas veterinárias, onde o uso de antimicrobianos tende a ser mais intenso, a ocorrência de infecções nosocomiais por microrganismos multirresistentes torna-se um desafio à parte, levando a consequências como internações prolongadas, alto custo e, mais preocupante, infecções graves sem resposta ao tratamento (SHORR, 2009; FLORES-MIRELES et al., 2015).

A resistência antimicrobiana de *E. coli* tem aumentado significativamente nos últimos anos e é preocupante, já que esse microrganismo tem grande capacidade de sofrer mutações, adquirir e transmitir elementos genéticos móveis que contêm genes de resistência (CHROMA; KOLAR, 2010). Nessa perspectiva, estirpes de *E. coli* comensais também podem atuar como reservatórios de genes de resistência a antimicrobianos que podem ser transmitidos para *E. coli* patogênicas, ou mesmo outros patógenos da família Enterobacteriaceae, capazes de infectar diversos hospedeiros (TADESSE et al., 2012). Além disso, nos últimos anos, estudos mostraram relações entre o perfil de sensibilidade antimicrobiana entre isolados de animais e seres humanos (GUARDABASSI, 2004; UKAH et al., 2018). Deve-se destacar que há relatos na literatura de que cães e seres humanos compartilham entre si estirpes com os mesmos genes de virulência (LJUNGQUIST et al., 2016).

As infecções do trato urinário (ITU) são as doenças infecciosas diagnosticadas com mais frequência na clínica de pequenos animais, sendo *E. coli* o agente etiológico mais comumente isolado de cães (MCMEEKIN et al., 2017). O grupo de agentes antimicrobianos mais amplamente utilizados contra as ITU são os β -lactâmicos, comumente a ampicilina, a

amoxicilina/ácido clavulânico ou a cefalosporina de primeira e segunda geração, enquanto a amicacina, a cefalosporina de terceira geração ou as fluorquinolonas são recomendadas para infecções complicadas (infecções mais graves que resultam em infecção secundária e anormalidades detectáveis no sistema imune do hospedeiro) (WEESE et al., 2011). Existem a preocupação quanto ao aumento da resistência de drogas consideradas de última escolha, já que a medicina humana e a medicina veterinária compartilham entre si as mesmas classes de antimicrobianos (HUGHES et al., 2012; BORTOLAMI et al., 2019).

Atualmente, existem diversos mecanismos conhecidos sobre a aquisição da resistência a antimicrobianos por *E. coli*, sendo as mais importantes, a produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs), β -lactamases AmpC e carbapenemases (BUSH; JACOBY, 2010; BUSH, 2018). Estabelecer um sistema de monitoramento é importante para a detecção da resistência antimicrobiana, ajudando na seleção da terapia empírica mais eficaz. Ferramentas fenotípicas e moleculares empregadas nos últimos anos facilitaram o entendimento sobre elementos resistência bacteriana. Isso é fundamental para esclarecer os impactos causados pela emergência de estirpes resistentes, além de orientar medidas que auxiliam a vigilância epidemiológica de *E. coli*, a fim de reduzir a propagação dessas estirpes (EWERS et al., 2012).

3.3.1 Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL)

A produção de enzimas β -lactamases é o principal mecanismo de resistência em Enterobacteriaceae (SCHAUFLER et al., 2015). Enterobactérias produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) são resistentes às cefalosporinas de 3^a e 4^a geração e aztreonam (BUSH; JACOBY, 2010). Esses, por sua vez, são comumente utilizados para tratar infecções contra enterobactérias, como *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Essas enzimas, na sua maioria, são codificadas por genes presentes em plasmídeos e são conhecidas principalmente por sua capacidade de hidrolisar grande parte dos antimicrobianos β -lactâmicos, expressando assim resistência a múltiplas drogas (COQUE; BAQUERO; CANTON, 2008; EWERS et al., 2012; HUBER et al., 2013; LIU; THUNGRAT; BOOTHE, 2016; PATERSON, 2000). Por essa razão, bactérias capazes de produzir essas enzimas tornaram-se um grande problema de saúde pública, uma vez que os β -lactâmicos são os antimicrobianos mais amplamente utilizados tanto na medicina humana como na medicina veterinária (HUGHES et al., 2012; BORTOLAMI et al., 2019).

Tais enzimas podem ser classificadas com base na sua estrutura molecular ou características funcionais (REYGAERT, 2018). Devido à grande variedade das β -lactamases, os métodos de classificação foram empregados para facilitar seu entendimento. Os métodos mais utilizados são a classificação de Ambler (1980) e Bush; Jacoby; Medeiros (1995). A classificação de Ambler é baseada na estrutura molecular e similaridade entre as sequências de aminoácidos e as enzimas são divididas em quatro classes (A, B, C e D). A classificação de Bush é baseada no perfil do substrato da atuação da enzima, além de propriedades físicas e inibitórias. Conforme demonstrado na Tabela 2, o sistema de classificação das β -lactamases é dividido em quatro grupos e seis subgrupos.

Tabela 2 - Classificação de β -Lactamases de acordo com os sistemas de classificação de Ambler e de Bush-Jacoby-Medeiros. Adaptado de Bush & Jacoby, 2010.

| Classificação de Bush- Jacoby- Medeiros | Classificação de Ambler | Principais características bioquímicas | Principais substratos |
|---|-------------------------|---|---|
| 1 | C | Não são inibidos pelo ácido clavulânico. Principalmente localizados no cromossomo de bactérias gram-negativas | Cefalosporinas Ex: AmpC, CMY-2, Fox-1 |
| 2a | A | Sofrem inibição pelo ácido clavulânico. Presentes em bactérias gram- positivas. | Penicilinas |
| 2b | A | Penicilinas de amplo espectro em bactérias gram-negativas. Inibidas pelo ácido clavulânico. | Penicilinas e cefalosporinas Ex.: TEM-1, TEM-2, SHV-1 |
| 2be | A | β -lactamase de espectro estendido conferindo resistência às cefalosporinas e monobactâmicos. Inibição pelo ácido clavulânico. | Penicilinas, cefalosporinas de amplo espectro e monobactâmicos Ex.: TEM-3, SHV-2, CTX-M15, PER-1 |
| 2br | A | Reduzida ligação aos inibidores de beta- lactamases | Penicilinas Ex.: TEM-30, SHV-10 |
| 2c | A | Modestamente inibida pelo ácido clavulânico | Penicilinas e carbenicilina (PSE-1) |
| 2d | D | Modestamente inibida pelo ácido clavulânico | Penicilinas, oxacilina, cloxacilina (OXA) |
| 2e | A | Inibida pelo ácido clavulânico | Cefalosporinas |
| 2f | A | Inibida pelo ácido clavulânico | Penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos (KPC) |
| 3 | B | Metallo- β -lactamases, conferindo resistência à maioria dos β - lactâmicos, exceto monobactâmicos. Não inibido pelo ácido clavulânico. | Penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos |
| 4 | ND * | Não são inibidas pelo ácido clavulânico, e ainda não possuem grupo molecular definido | Penicilinas |

* Não determinado

A ação das enzimas é bloqueada por inibidores da β -lactamase, como ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam (RAWAT; NAIR, 2010). Os antimicrobianos quando associados a esses compostos são capazes de combinar fortemente com as enzimas, impedindo sua ação e restabelecendo a atividade dos β -lactamâmicos (TRABULSI, L; ALTERTHUM, 2008).

Embora os relatos de bactérias produtoras de ESBL em animais de companhia terem sido negligenciados por muito tempo, trabalhos recentes demonstram alta frequência desses isolados, provenientes principalmente de cães, gatos e cavalos (SUN et al., 2010; MÜNCH; WOCHENSCHR; GRAM-, 2011; WIELER et al., 2011). A disseminação de isolados ESBL obtidos de animais de companhia reduz gradualmente as opções terapêuticas para seu tratamento, além de favorecer a propagação de estirpes produtoras de ESBL para humanos e outros animais. Estudos demonstraram semelhanças entre os perfis de resistência antimicrobiana de *E. coli* isoladas tanto de animais como de seus proprietários, as quais pertenciam também aos mesmos grupos filogenéticos (CARVALHO et al., 2016; LJUNGQUIST et al., 2016). Mais recentemente, autores têm demonstrado, por meio de técnicas de tipagem molecular e análise de genoma, a clonalidade de bactérias produtoras de ESBL de animais de companhia e seres humanos residentes na mesma casa, sugerindo uma possível transmissão zoonótica (GRÖNTHAL et al., 2018; TOOMBS-RUANE et al., 2020; VAN DEN BUNT et al., 2020).

Diversos estudos investigaram a presença de bactérias ESBL em diferentes espécies de animais. Em um estudo realizado na França, os pesquisadores encontraram altas frequências de ESBL e AmpC (29%) em estirpes isoladas de amostras de fezes de cavalos saudáveis (LAGARDE et al., 2019). A presença desta enzima também foi observada em isolados de animais de produção doentes, como aves, porcos e bovinos (MICHAEL et al., 2017). Devido ao contato próximo entre seres humanos e animais e a ingestão de produtos de origem animal, a presença de bactérias ESBL em animais representam um problema de saúde pública. Portanto, é extremamente importante identificar essas enzimas em isolados de animais para ampliar as medidas de monitoramento da disseminação de resistência bacteriana (EWERS et al., 2012).

Existem diferentes protocolos que presumem a presença de bactérias produtores de ESBL (CLSI, 2012). A identificação inicial pode ser feita mediante a realização do antibiograma pela técnica de disco difusão, utilizando antimicrobianos marcadores como cefalosporinas de terceira geração nos quais possuem pontos de corte sugeridos pelo CLSI. Para a confirmação, o teste é realizado pela utilização de um disco de amoxicilina

com ácido clavulânico no centro da placa e distante a 20 mm dos outros discos dos β -lactâmicos ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona e/ou aztreonam. O efeito sinérgico do inibidor de β -lactamase com os β -lactâmicos pode causar um fenômeno conhecido como “zona fantasma”. Trata-se de uma distorção dos halos de inibição entre o disco contendo ácido clavulânico e do antimicrobiano β -lactâmico, confirmando assim a produção de ESBP pelo isolado (JARLIER et al., 1988).

3.3.2 β -lactamases AmpC

De acordo com a classificação estrutural de Ambler, o termo AmpC define uma classe de enzimas que pertencem à classe molecular C, como também a um grupo de enzimas com sítio ativo de serina capazes de hidrolisar cefalosporinas (JACOBY, 2009). Podem ser classificadas em dois grandes grupos de acordo com sua origem, sendo, cromossômicas e plasmidiais. As enzimas de origem plasmidial têm sido comumente encontradas em *K. pneumoniae* e *E. coli* (PHILIPPON; ARLET; JACOBY, 2002). Além da localização, diferem pela presença de genes acessórios e reguladores presentes nos grupos cromossômicas, e ausentes nas plasmidiais.

A expressão de AmpC em bactérias da família Enterobacteriaceae geralmente é observada em níveis basais e podem inativar a ação das cefalosporinas. Contudo, se produzida em níveis elevados, outros β -lactâmicos podem ser inativados (PATERSON, 2006; JACOBY, 2009; BUSH; JACOBY, 2010). A hiperprodução de AmpC em bactérias Gram-negativas pode ocorrer pela mutação no gene cromossômico, ou pela aquisição de plasmídeos ou outros elementos móveis, denominados então AmpC mediadas por plasmídeo (PEREZ-PEREZ; HANSON, 2002). Esses plasmídeos que codificam o gene AmpC têm propagação em bactérias com capacidade de expressar AmpC cromossômico, como *E. coli*, *K. pneumoniae* e *Proteus mirabilis* (JACOBY, 2009; MEINI et al., 2019). Portanto, bactérias produtoras de AmpC transportadas por plasmídeo, incluindo *E. coli*, estão cada vez mais descritas em todo o mundo (BOGAERTS et al., 2015; TOOMBS-RUANE et al., 2017; VAN DEN BUNT et al., 2020).

As β -lactamases AmpC não são inibidas por inibidores de β -lactamase como as ESBP, e por essa razão, apresentam resistência a quase todos β -lactâmicos disponíveis terapêuticamente (DIERIKX et al., 2012; PITOUT, 2012). A utilização de inibidores da β -lactamase, como o ácido clavulânico, e a incapacidade de hidrolisar as cefamicinas

podem ser usadas para diferenciar as ESBL das β -lactamases do tipo AmpC (RAWAT; NAIR, 2010).

Existem diferentes testes para confirmar a presença de AmpC descritos na literatura (JACOBY, 2009; EDQUIST et al., 2013). Os testes de confirmação fenotípica são geralmente baseados na inibição por cloxacilina ou derivados do ácido borônico que são bons inibidores de AmpC. Para *E. coli*, no entanto, esses testes de confirmação não diferenciam AmpC plasmidial e cromossômico (MEINI et al., 2019). Um teste baseado na comparação da zona de inibição em torno do disco cefoxitina e um disco de cefoxitina suplementado com inibidor cloxacilina demonstrou ter alta sensibilidade e especificidade para detecção de AmpC plasmidial (TAN et al., 2009).

A incidência de ESBL e AmpC em infecções extraintestinais em seres humanos e animais aumentou consideravelmente nos últimos anos, não apenas em ambientes nosocomiais, como também em ambientes comunitários. Portanto, recomenda-se na rotina laboratorial testes de sensibilidade antimicrobiana, além da confirmação dessas enzimas para direcionar melhor o tratamento, e, com isso, reduzir a propagação de bactérias multirresistentes (SCHWABER et al., 2006; BARCO et al., 2015; BORTOLAMI et al., 2019).

3.4 Infecção por *Escherichia coli* em cães

E. coli é uma bactéria que reside no trato intestinal de seres humanos e animais, mas que pode causar quadros infecciosos intestinais e extraintestinais de gravidade variadas (NATARO; KAPER, 1998; CHAUDHURI; HENDERSON, 2012). Em animais, as estirpes extraintestinais são comumente isoladas de diferentes sítios de infecções, incluindo trato urinário, respiratório, pele e tecidos moles, trato gastrointestinal, articulações e feridas (GUARDABASSI, 2004; ZOGG et al., 2018b).

Pouco se sabe sobre a epidemiologia da ExPEC em animais de companhia. Em cães, as ITU são as mais frequentemente diagnosticadas e *E. coli* é o agente mais comum (THOMPSON et al., 2011; MAO et al., 2012). Estima-se que 14% dos cães apresentam algum quadro clínico de ITU pelo menos uma vez na vida (MCMEEKIN et al., 2017).

Estudos demonstram que *E. coli* pode ser agrupada em diferentes filogrupos que estão associados à colonização de diversos nichos ecológicos altamente especializados, cada qual com características e tendências específicas para causar doenças (CLERMONT; BONACORSI; BINGEN, 2000; GORDON et al., 2008). Normalmente,

os isolados comensais de *E. coli* em cães são derivados dos filogrupos A e B1 (DAMBORG; NIELSEN; GUARDABASSI, 2009). Parecem existir, porém, exceções. Um estudo realizado no Japão revelou o filogrupo B2 como o mais prevalente em cães saudáveis e em seus proprietários (HARADA et al., 2012).

Os isolados de ExPEC são classificados principalmente nos filogrupos B2 e D possivelmente pela associação desses filogrupos a sua alta virulência (OSUGUI et al., 2014; HUTTON et al., 2018; KIDSLEY et al., 2020; WANG et al., 2020). Em seres humanos também, os grupos filogenéticos mais urovirulentos são principalmente B2 e D (TOURRET; DENAMUR, 2016). Em um estudo recente conduzido na França, estirpes de ExPEC isoladas de cães foram classificadas principalmente no filogrupo B2 e estão relacionadas, sobretudo, a ITU (VALAT et al., 2020).

Geralmente, estirpes de ExPEC apresentam maior número de fatores de virulência quando comparados com estirpes comensais intestinais e/ou diarregênicas (OSUGUI et al., 2014; COURA et al., 2018). Enquanto alguns autores defendem que a detecção dos genes codificadores das fímbrias tipo P e S (genes *pap* e *sfa*, respectivamente) são suficientes para definir uma estirpe extraintestinal (JOHNSON et al., 2003a), outros apontam que é necessária associação de diferentes fatores de virulência para classificar um microrganismo como ExPEC (SMITH; FRATAMICO; GUNTHER, 2007; KÖHLER; DOBRINDT, 2011). Nesse contexto, estudos tem tentado associar a presença de genes de virulência com síndromes e quadros clínicos específicos (SAROWSKA et al., 2019).

Recentemente Hutton et al. (2018) demonstraram uma associação entre a presença de genes associados à adesinas e uma maior chance de internação por ITU em cães e gatos (HUTTON et al., 2018). Em estirpes oriundas de infecções urinárias em cães, alguns fatores de virulência destacam-se em relação aos isolados da microbiota intestinal, tais como as adesinas fímbria tipo 1 (*fimH*), região central da fímbria tipo 1 (*focG*), fímbria tipo P (*papC* e *papG*) e fímbria tipo S (*sfaS*); as toxinas α -hemolisina (*hlyA*), fator citotóxico necrosante tipo 1 (*cnf-1*) e proteína uropatogênica específica (*usp*); os sistemas de aquisição de ferro, como o sideróforo aerobactina (*iutA*); e também as protectinas como o gene de sobrevivência ao soro (*traT*) (SIQUEIRA et al., 2009; OSUGUI et al., 2014; VALAT et al., 2020). Porém, a literatura ainda carece de estudos associando tais genes a diferentes quadros clínicos, fazendo com que o papel de cada um seja ainda incerto.

As infecções por *E. coli* têm se tornado um problema grave tanto para seres humanos quanto para animais devido ao aumento da resistência antimicrobiana (PIRAS et al., 2015). No Brasil, um estudo recente, demonstrou altos níveis de resistência de *E. coli* a diferentes classes antimicrobianas em casos de infecção urinária em cães (OSUGUI et al., 2014). Animais de companhia, como os cães, podem representar fontes potenciais de disseminação da resistência antimicrobiana, provavelmente em função do amplo uso de agentes antimicrobianos em práticas veterinárias e seu contato próximo com seres humanos (GANDOLFI-DECRISTOPHORIS et al., 2013). Alguns trabalhos demonstram semelhanças nos padrões de resistência antimicrobiana de estirpes bacterianas isoladas de cães e seus proprietários, sugerindo que animais podem ser considerados sentinelas de resistência no ecossistema humano (CARVALHO et al., 2016).

Os β -lactâmicos são os principais antimicrobianos utilizados para o tratamento de infecções bacterianas na medicina veterinária. Esse grupo é indicado em 43,6% das prescrições de agentes antimicrobianos para caninos e 70,8% para felinos (SINGLETON et al., 2017). Seu uso expandido está associado principalmente à sua segurança, espectro antimicrobiano, disponibilidade de formulações orais, boas propriedades farmacocinéticas e baixo custo (HUGHES et al., 2012; BORTOLAMI et al., 2019). As cefalosporinas estão entre as drogas mais comumente prescritas em cães (MURPHY et al., 2012), o que pode estar ligado ao crescente porcentual de estirpes resistentes a essa classe em todo o mundo, comumente associados a presença de ESBL (LIU et al., 2016; BORTOLAMI et al., 2019).

Vários estudos demonstraram a presença de ESBL e AmpC em bactérias isoladas de amostras clínicas de pequenos animais saudáveis e doentes (BOGAERTS et al., 2015; ZOGG et al., 2018b). Estudos demonstraram uma prevalência relativamente alta de ESBL (15 a 45%) e AmpC (20 a 45%) em amostras fecais de cães doentes de diversos países da Europa e Ásia (EWERS et al., 2012; SO et al., 2012; HORDIJK et al., 2013; BELAS et al., 2014).

Estirpes de *E. coli* produtoras de ESBL destacam-se em infecções no trato urinário de cães (LECUYER et al., 2018; ZOGG et al., 2018a). No Brasil, os estudos epidemiológicos de isolados *E. coli* de cães são escassos (SIQUEIRA et al., 2009; OSUGUI et al., 2014). Em adição, sabe-se pouco sobre os aspectos clínico-epidemiológicos associados as infecções por ExPEC em cães. A caracterização desse patógeno e avaliação da sensibilidade antimicrobiana se torna essencial para direcionar o

tratamento correto, algo essencial em um contexto global de aumento de estirpes multirresistentes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostras e dados clínico-epidemiológicos

Foram utilizados na pesquisa 50 isolados de *E. coli* obtidos a partir de amostras clínicas extraintestinais de 50 cães distintos atendidos entre 2017 e 2019 no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A Figura 2 resume o fluxograma de trabalho adotado no presente projeto.

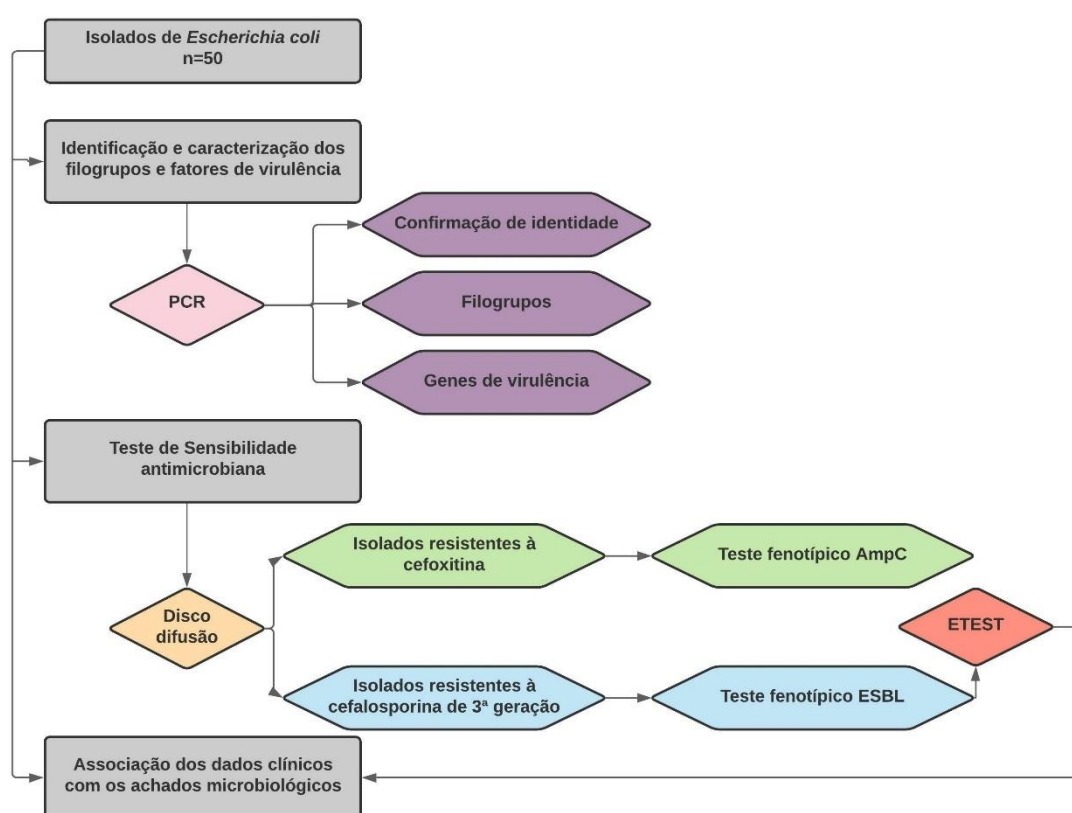


Figura 2 Fluxograma das etapas e metodologias empregadas para o alcance dos objetivos propostos

As amostras clínicas foram enviadas passivamente ao Laboratório de Bacteriologia de Rotina da Escola de Veterinária da UFMG, pela equipe do Hospital Veterinário, para diagnóstico microbiológico em casos de suspeita de infecção em diferentes sítios (Tabela 3). Os isolados previamente identificados por métodos fenotípicos, gentilmente cedidos, foram armazenados a -20°C em caldo infusão cérebro-coração (BHI, Difco, EUA) acrescido de 15% de glicerina.

Por meio das fichas de atendimento dos animais, os seguintes dados foram coletados de forma retrospectiva e quando disponíveis: raça, idade, sexo, uso prévio de antimicrobianos, motivo da internação, ambiente de internação, data da coleta da amostra, infecção nosocomial ou comunitária, sítio de infecção, hemograma, leucograma, urinálise, exames de bioquímica hepática e renal e desfecho clínico (óbito). O presente trabalho foi autorizado previamente pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG sob o protocolo nº 51/2015. A Tabela 3 demonstra a distribuição das estirpes de *E. coli* extraintestinal em cada sítio de infecção.

Tabela 3 Relação dos números de isolados de *E. coli* extraintestinal de cães de acordo com o sítio de infecção

| Sítio de infecção | Número de isolados (%) |
|---------------------|------------------------|
| Geniturinário | 30 (60%) |
| Feridas cirúrgicas | 13 (26%) |
| Outros | 4 (8%) |
| Infecções de ouvido | 3 (6%) |
| Total | 50 (100%) |

4.2 Confirmação da identidade

Os isolados foram repicados em ágar Mueller Hinton (Oxoid, Reino Unido) suplementado com 5% de sangue ovino desfibrinado (AS) e ágar MacConkey (MC) (Difco, USA). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas e até três unidades formadoras de colônia com aspecto semelhante a *E. coli* foram submetidas a extração de DNA pelo método da guanidina (PITCHER; SAUNDERS; OWEN, 1989). A verificação da qualidade da extração foi realizada por espectrofotometria (SAMBROOK et al., 1989) e padronizou-se a concentração de 50 ng/µL.

Para a confirmação da identidade, foi realizada a PCR para amplificação do gene espécie-específico *gadA/B* (McDANIELS et al., 1996). O gene de interesse *gadA/B*, o desenho de cada iniciador, o tamanho do produto amplificado e a referência bibliográfica são descritos na Tabela 4.

Tabela 4 Gene espécie-específico de *E. coli*, desenho dos iniciadores, tamanho do produto e referência bibliográfica.

| Gene | Iniciador | Sequência de oligonucleotídeos 5'- 3' | pb | Referência |
|---------------|----------------------|---|-----|------------------------------|
| <i>gadA/B</i> | gadA/B F gadA/B R | CCAAAAGCCAGACAGAGT GCACAGCACATCCCCAAAGAG | 623 | McDaniels et al., (1996). |

4.3 Filogrupo e fatores de virulência

Após confirmação da identidade, o DNA dos isolados de *E. coli* foram submetidos ao protocolo descrito por Clermont et al. (2013) para caracterização dos grupos filogenéticos A, B1, B2, C, D, E e F, conforme a combinação *chuA*, *yjaA*, *arpA* e o fragmento de DNA TspE4.C2. Posteriormente, foram realizadas reações para identificação dos principais fatores de virulência de *E. coli* comuns aos patotipo ExPEC, a saber: fímbria tipo 1 (*fimH*), aerobactina (*iutA*), alfa-hemolisina (*hlyA*), fímbria tipo P (*papC* e *papG*), gene de sobrevivência ao soro (*traT*), região central da fímbria tipo 1 (*focG*), fator necrosante citotóxico-1 (*cnf1*), fímbria S (*sfaS*) (JOHNSON; STELL, 2000) e proteína uropatogênica específica (*usp*) (SIQUEIRA et al., 2009).

Os isolados que continham a presença de dois ou mais genes pesquisados foram classificados como ExPEC, conforme definição proposta por Johnson; Russo (2005). As reações de PCR do presente estudo foram realizadas com tampão 1X (Green GoTaq Flexi Buffer, Promega, USA), 1,5mM de MgCl₂, 0,2mM de dNTP e 2U de taq DNA polimerase (GoTaq, Promega, USA). Os genes utilizados e desenho de cada iniciador, tamanho dos produtos e referências bibliográficas estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 Genes pesquisados para determinação dos grupos filogenéticos e patótipos de *E. coli*, desenho de cada iniciador, tamanho dos produtos e referência bibliográfica.

| Gene | Iniciador | Sequência de oligonucleotídeos 5'-3' | pb | Referência |
|--------------|------------|--------------------------------------|------|--------------------------|
| <i>arpA</i> | AceK.f | AACGCTATTCGCCAGCTTGC | 400 | Clermont et al., (2013). |
| | ArpA1.r | TCTCCCCATACCGTACGCTA | | |
| <i>chuA</i> | chuA.1b | ATGGTACCGGACGAACCAAC | 288 | |
| | chuA.2 | TGCCGCCAGTACCAAAGACA | | |
| <i>yjaA</i> | yjaA.1b | CAAACGTGAAGTGTCCAGGAG | 211 | |
| | yjaA.2b | AATGCGTTCCTCAACCTGTG | | |
| TspE4.C2 | TspE4C2.1b | CACTATTCGTAAGGTCATCC | 152 | |
| | TspE4C2.2b | AGTTTATCGCTGCGGGTCGC | | |
| <i>fimH</i> | FimH r | GCAGTCACCTGCCCTCCGGTA | | |
| <i>traT</i> | traT f | GGTGTGGTGGATGAGCACAG | 290 | |
| | traT r | CACGGTTCAGCCATCCCTGAG | | |
| <i>iutA</i> | AerJ f | GGCTGGACATCATGGGAACTGG | 300 | |
| | AerJ r | CGTCGGGAACGGGTAGAATCG | | |
| <i>hlyA</i> | hly1 | ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA | 1177 | |
| | hly2 | ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA | | |
| <i>papC</i> | PapC f | GTGGCAGTATGAGTAATGACCGTTA | 200 | Johnson e Stell (2000) |
| | PapC r | ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA | | |
| <i>focG</i> | focG f | CAGCACAGGCAGTGGATACGA | 360 | |
| | focG r | GAATGTCGCCTGCCCATGCT | | |
| <i>papG</i> | pG f | CTGTAATTACGGAAGTATTCTG | 1170 | |
| | pG r | ACTATCCGGCTCCGGATAAACCAT | | |
| <i>sfaS</i> | SfaS f | GTGGATACGACGATTACTGTG | 240 | |
| | SfaS r | CCGCCAGCATTCCCTGTATTC | | |
| <i>cnf-1</i> | cnf1 | AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG | 498 | |
| | cnf2 | TGGAGTTTCCTATGCAGGAG | | |
| <i>usp</i> | uspF | ATGCTACTGTTCCGGGTAGTGTGT | 1000 | Siqueira et al., (2009). |
| | uspR | CATCATGTAGTCGGGGCGTAACAAT | | |

Após reação de amplificação em termociclador (Life Technologies, EUA), os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (2%) com tampão Tris-borato-EDTA (1X) corado com brometo de etídio (Sigma-Aldrich, EUA) a 1µg/µL e visualizados com auxílio de equipamento de transluminação UV (Loccus Biotecnologia, Brasil).

4.4 Sensibilidade antimicrobiana

4.4.1 Disco difusão

Os isolados de *E. coli* foram submetidos a testes de sensibilidade antimicrobiana pelo método disco difusão de acordo com a versão mais recente das diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2021). Os seguintes antimicrobianos foram utilizados: amoxicilina /ácido-clavulânico (30 µg), ampicilina (10 µg), cefoxitina (30 µg), ceftiofur (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), doxiciclina (30 µg), enrofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), imipinem (30 µg), meropenem (30 µg), neomicina (30 µg), nitrofurantoína (300 µg), oxitetraciclina (30 µg) e sulfametoxazol/trimetropim (25 µg) (Oxoid, Reino Unido).

Utilizando uma cultura fresca (máximo 24 horas), foi preparada uma suspensão bacteriana em tampão fosfato (pH 6,0) com a turbidez 0,5 da escala de MacFarland. O inóculo foi plaqueado utilizando o meio padrão ágar Müller Hinton (MH) e incubado por 18-24 horas em condições de aerobiose e temperatura de 37 °C (Kasvi, Itália). Os resultados dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos foram interpretados de acordo com as diretrizes do CLSI para patógenos veterinários (CLSI, 2021).

Os isolados que apresentaram resistência a mais de três classes antimicrobianas foram considerados multirresistentes (MDR) (COHEN et al., 2008). A estirpe padrão de *E. coli* ATCC 25922 foi utilizada como controle de qualidade.

4.4.2 β-lactamases de espectro estendido (ESBL)

Isolados de *E. coli* com suscetibilidade reduzida a cefalosporinas de terceira geração (ceftiofur – halo inferior a 16mm) foram submetidas a pesquisa de ESBL. Para triagem, utilizou-se o teste de disco aproximação (DDST, do inglês *Double Disk Screening Test*) (JARLIER et al., 1988). Após inoculação do isolado em Muller-Hinton (item 4.4.1), adicionou-se os discos de amoxicilina/ácido clavulânico e ceftazidima distantes 20 mm. As placas foram incubadas por 18 – 24 horas a 37 °C. Foram consideradas positivas na triagem os isolados que apresentaram alguma zona de deformação ou zona fantasma.

Para confirmação, utilizou-se fitas E-test® (Biomérieux, França) formuladas para confirmar a presença de enzimas produtoras de ESBL via determinação comparada da concentração inibitória mínima (CIM) de ceftazidima e ceftazidima acrescida de ácido clavulânico (TZ/TZL). Os testes e a interpretação foram realizados como recomendado pelo

fabricante. Resumidamente, as placas inoculadas (item 4.4.1) receberam uma fita de E-test e foram incubadas 18 – 24 horas a 37 °C. A CIM foi interpretada como o ponto de intersecção entre a elipse de inibição com a borda da fita de E-test®. Foram consideradas produtoras de ESBL as amostras que apresentaram uma redução de oito vezes na CIM de ceftazidima combinada com ácido clavulânico em comparação com a CIM da ceftazidima isoladamente (razão maior ou igual a 8). Além disso, amostras com presença de uma zona fantasma ou com elipse deformada, também foram consideradas produtoras de ESBL.

4.4.3 β -lactamases AmpC

Isolados que apresentaram sensibilidade reduzida a cefoxitina (30 μ g) foram submetidos a pesquisa de AmpC pelo teste de sinergia de disco duplo de cefoxitina-cloxacilina (CC-DDS) (TAN et al., 2009; EDQUIST et al., 2013). Para isso, discos de cefoxitina foram suplementados com 750 μ g de cloxacilina (em um volume de 10 μ L) e, após secagem por 10 minutos, armazenados a -20°C. Após inoculação das placas de Muller-Hinton (Item 4.4.1), adicionou-se um disco de cefoxitina e um de cefoxitina com cloxacilina. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e realizou-se a medição do diâmetro dos halos de inibição de crescimento. Foram consideradas positivas no teste de triagem as amostras que apresentaram diâmetro ≥ 4 mm no disco contendo cefoxitina quando comparado com o disco de cefoxitina com cloxacilina.

4.5 Análises estatísticas

Os resultados foram analisados no programa Stata/SE 12.0 (STATA, 2011). Para a análise da associação entre a combinação dos genes de virulência, filogrupos, sensibilidade antimicrobiana e as variáveis categóricas clínico-epidemiológicas foi realizado o teste do qui-quadrado e o teste exato de Fisher. Variáveis com resultados de $p \leq 0,05$ foram consideradas associadas às características moleculares de *E. coli* (THRUSFIELD et al., 2018).

5 RESULTADOS

5.1.1 Amostragem

Dos 50 isolados obtidos no estudo, 54% (27/50) foram obtidos de cadelas e 46% (23/50) de cães machos. Ainda, 50% (25/25) vieram de animais hospitalizados, dos quais 56% (14/25) oriundos da Enfermaria, 24% (5/25) Unidade de terapia intensiva (UTI) e 20% (5/25) do ambiente pré/pós-operatório. Destes, 72% (18/25) foram classificados como infecção hospitalar (infecção nosocomial).

A disponibilidade das informações clínico-epidemiológicas variou muito entre os prontuários consultados. Apenas 30% (15/50) dos prontuários havia histórico de uso prévio de antimicrobianos. O tempo de internação variou entre 0 e 100 dias. Os dados de hemograma e leucograma estavam disponíveis em 58% (29/50) dos casos analisados, sendo que 48% (14/29) apresentaram leucocitose e apenas 6% (2/29) leucopenia. Dados de bioquímica sérica estavam disponíveis em 62% (31/50) dos casos analisados e 61% (19/31) apresentavam aumento de ureia e creatinina, 16% (5/31) aumento de aspartato aminotransferase (AST) e dois (6%) de alanina aminotransferase (ALT). Informações de óbito estavam disponíveis em 36% (18/50) dos casos e oito (44%) animais vieram a óbito.

5.1.2 Filogrupos

Todas as estirpes foram classificadas de acordo com a metodologia proposta por Clermont *et al.* (2013) e o filogrupo B2 foi estatisticamente superior aos demais filogrupos, correspondendo um total de 66% (33/50) dos isolados (Tabela 6).

Tabela 6 Número de isolados e frequência (%) de filogrupos de *E. coli* extraintestinais em cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG, Belo Horizonte, Brasil.

| Filogrupo | Sitio de infecção | | | | Total |
|--------------|-------------------|--------------------|----------------|----------------|-----------------|
| | Geniturinário | Feridas cirúrgicas | Otitis | Outros | |
| A | 3 (10%) | 1 (8%) | 0 | 0 | 4 (8%) |
| B1 | 3 (10%) | 1 (8%) | 0 | 0 | 4 (8%) |
| B2 | 20 (67%) | 9 (69%) | 2 (67%) | 2 (50%) | 33 (66%) |
| C | 2 (7%) | 0 | 0 | 1 (25%) | 3 (6%) |
| D | 1 (3%) | 0 | 0 | 0 | 1 (2%) |
| E | 0 | 1 (8%) | 1(33%) | 0 | 2 (4%) |
| F | 1 (3%) | 1 (8%) | 0 | 1 (25%) | 3 (6%) |
| Total | 30 | 13 | 3 | 4 | 50 |

Deve-se destacar ainda, que estirpes B2 predominaram em todos os sítios de infecção (Figura 3).

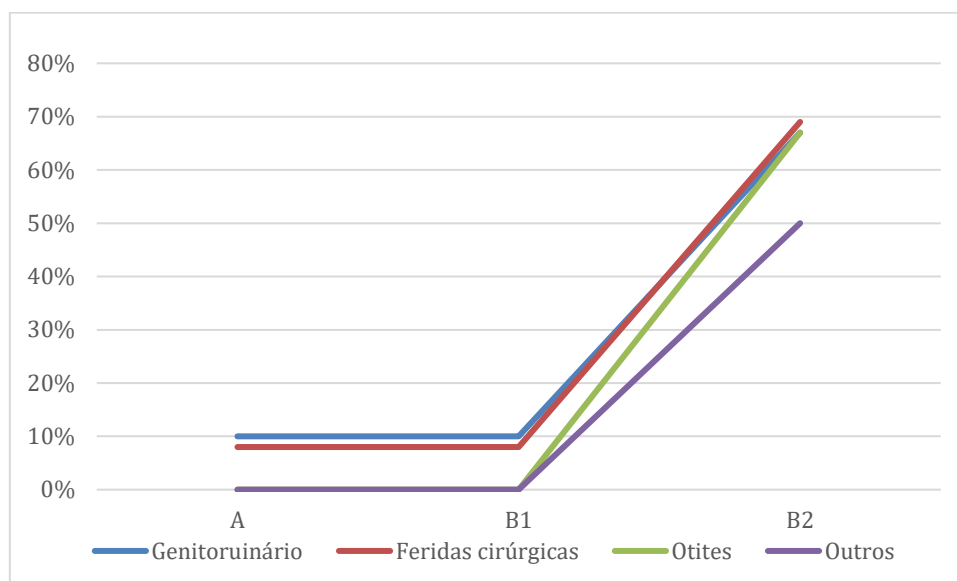


Figura 3 Frequência de filogrupos A, B1 e B2 de *E. coli* isolados em diferentes sítios de infecção de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG (2017-2019).

5.1.3 Genes de virulência

Todos os genes de virulência pesquisados foram encontrados no presente estudo (Tabela 7). Os genes de virulência mais comuns entre as estirpes de *E. coli* foram *focG* (47/50 – 94%), *fimH* (45/50 – 90%), *cnf1* (44/50 – 88%), e *iutA* (43/50 – 86%).

Tabela 7 Número de isolados e frequência (%) de fatores de virulência de *E. coli* de cães de acordo com o sítio de infecção

| Fatores de virulência | Sítio de infecção | | | | Total | |
|-----------------------|-------------------|--------------------|----------|----------|-----------|----------|
| | Geniturinário | Feridas cirúrgicas | Otites | Outros | | |
| Adesinas | <i>fimH</i> | 27 (90%) | 11 (85%) | 3 (100%) | 4 (100%) | 45 (90%) |
| | <i>focG</i> | 28 (93%) | 12 (92%) | 3 (100%) | 4 (100%) | 47 (94%) |
| | <i>papC</i> | 9 (30%) | 6 (46%) | 1 (33%) | 2 (50%) | 18 (36%) |
| | <i>papG</i> | 18 (60%) | 9 (69%) | 3 (100%) | 3 (75%) | 33 (66%) |
| | <i>sfa</i> | 3 (10%) | 0 | 0 | 0 | 3 (6%) |
| Toxinas | <i>cnf1</i> | 26 (87%) | 11 (85%) | 3 (100%) | 4 (100%) | 44 (88%) |
| | <i>hlyA</i> | 15 (30%) | 8 (62%) | 0 | 4 (100%) | 27 (54%) |
| | <i>usp</i> | 14 (47%) | 6 (46%) | 1 (33%) | 3 (75%) | 24 (48%) |
| Outros | <i>iutA</i> | 26 (87%) | 11 (85%) | 3 (100%) | 3 (75%) | 43 (86%) |
| | <i>tratA</i> | 19 (63%) | 9 (69%) | 2 (67%) | 2 (50%) | 32 (64%) |
| Total | 30 | 13 | 3 | 4 | 50 | |

Três estirpes (6%) não foram classificadas como ExPEC por não apresentarem pelo menos de 2 genes de virulência (JOHNSON; RUSSO, 2005). Apenas uma estirpe de *E. coli*, pertencente ao filogrupo B2, foi negativa para todos os genes de virulência pesquisados. Os isolados foram agrupados em 27 perfis de virulência e sua combinação são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8 Perfil de virulência de 50 estirpes de *E. coli* extraintestinais isolados de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG, Belo Horizonte, Brasil, 2017-2019.

| Número de isolados | Genes | Quantidade de genes |
|--------------------|--|---------------------|
| 1 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, sfaS, cnf1, usp</i> | 10 |
| 4 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | 9 |
| 3 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1</i> | 8 |
| 3 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, papG, cnf1, usp</i> | 8 |
| 3 | <i>fimH, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | 8 |
| 1 | <i>fimH, traT, hlyA, papC, focG, papG, sfaS, cnf1</i> | 8 |
| 4 | <i>fimH, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1</i> | 7 |
| 3 | <i>fimH, traT, iutA, focG, papG, cnf1, usp</i> | 7 |
| 2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, cnf1, usp</i> | 7 |
| 2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, papG, cnf1, usp</i> | 7 |
| 1 | <i>fimH, traT, iutA, papC, focG, papG, cnf1</i> | 7 |
| 1 | <i>fimH, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | 7 |
| 4 | <i>fimH, traT, iutA, focG, papG, cnf1</i> | 6 |
| 2 | <i>fimH, iutA, hlyA, focG, cnf1, usp</i> | 6 |
| 1 | <i>fimH, iutA, hlyA, focG, sfaS, usp</i> | 6 |
| 4 | <i>fimH, traT, iutA, focG, cnf1</i> | 5 |
| 1 | <i>fimH, traT, iutA, focG, usp</i> | 5 |
| 1 | <i>fimH, iutA, focG, cnf1, usp</i> | 5 |
| 1 | <i>fimH, iutA, focG, papG, cnf1, usp</i> | 5 |
| 1 | <i>traT, iutA, focG, papG, cnf1</i> | 5 |
| 1 | <i>fimH, traT, focG, usp</i> | 4 |
| 1 | <i>fimH, iutA, focG, cnf1</i> | 4 |
| 1 | <i>iutA, focG, cnf1, usp</i> | 4 |
| 1 | <i>fimH, traT</i> | 2 |
| 1 | <i>focG, cnf1</i> | 2 |
| 1 | <i>papG</i> | 1 |
| 1 | <i>negativo</i> | 0 |

5.1.4 Resistência antimicrobiana

Na Figura 4 são apresentados a prevalência de resistência de isolados de *E. coli* de frente aos diferentes antimicrobianos testados. Metade dos isolados (25/50) foram multirresistentes (resistência ≥ 3 classes de antimicrobianos), dos quais 56% (14/25) foram oriundos de infecção nosocomial. Os maiores índices de resistência foram para ampicilina 52% (26/50), sulfametoxazol 48% (24/50) e oxitetraciclina 48% (24/50). Entre as fluorquinolonas, a resistência foi de 32% (16/50) aos dois antimicrobianos testados, e todos isolados resistentes a fluorquinolonas eram também multirresistentes. Duas estirpes (4%) foram sensíveis a todos os antimicrobianos.

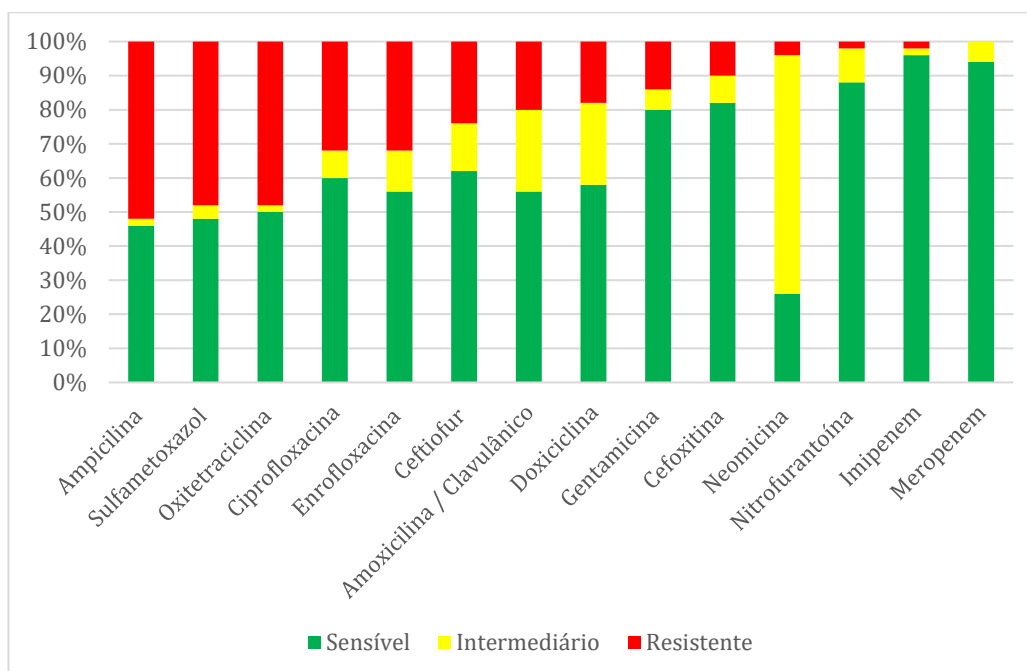


Figura 4 Prevalência geral de resistência antimicrobiana entre isolados clínicos de *E. coli* extraintestinal de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG de 2017 a 2019, em Belo Horizonte, Brasil.

Estirpes do filogruppo B2 apresentaram resistência a um menor número de antimicrobianos ($p < 0,005$), enquanto estirpes pertencentes ao filogruppo A foram associadas a resistência a um maior número de compostos. Em relação aos perfis de resistência, 36 diferentes combinações de fenótipos de resistência entre os 14 antimicrobianos testados foram observados, sendo a resistência simultânea a amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina, cefoxitina, ceftiofur, ciprofloxacina, doxiciclina, enrofloxacina, gentamicina, nitrofurantoína, oxitetraciclina, sulfametoxazol com nível intermediário a neomicina o perfil mais prevalente (27,7%).

5.1.5 β -lactamases de espectro estendido e β -lactamases AmpC

Das 50 amostras estudadas, 19 apresentaram diminuição de sensibilidade a cefalosporina de 3ª geração, sendo sete em nível intermediário e 12 resistentes (halo menor que 16mm) e treze apresentaram zona fantasma (Figura 6) no teste de disco difusão. A presença de ESBL foi confirmada em todas as treze amostras que apresentaram a zona fantasma. Em adição, um total de dez amostras foram testadas para AmpC por apresentarem resistência ou resistência intermediária à cefoxitina. Dessas, oito foram

consideradas positivas para AmpC, sendo três isolados intermediários e cinco resistentes. Duas estirpes foram consideradas positivas tanto para ESBL quanto para AmpC.

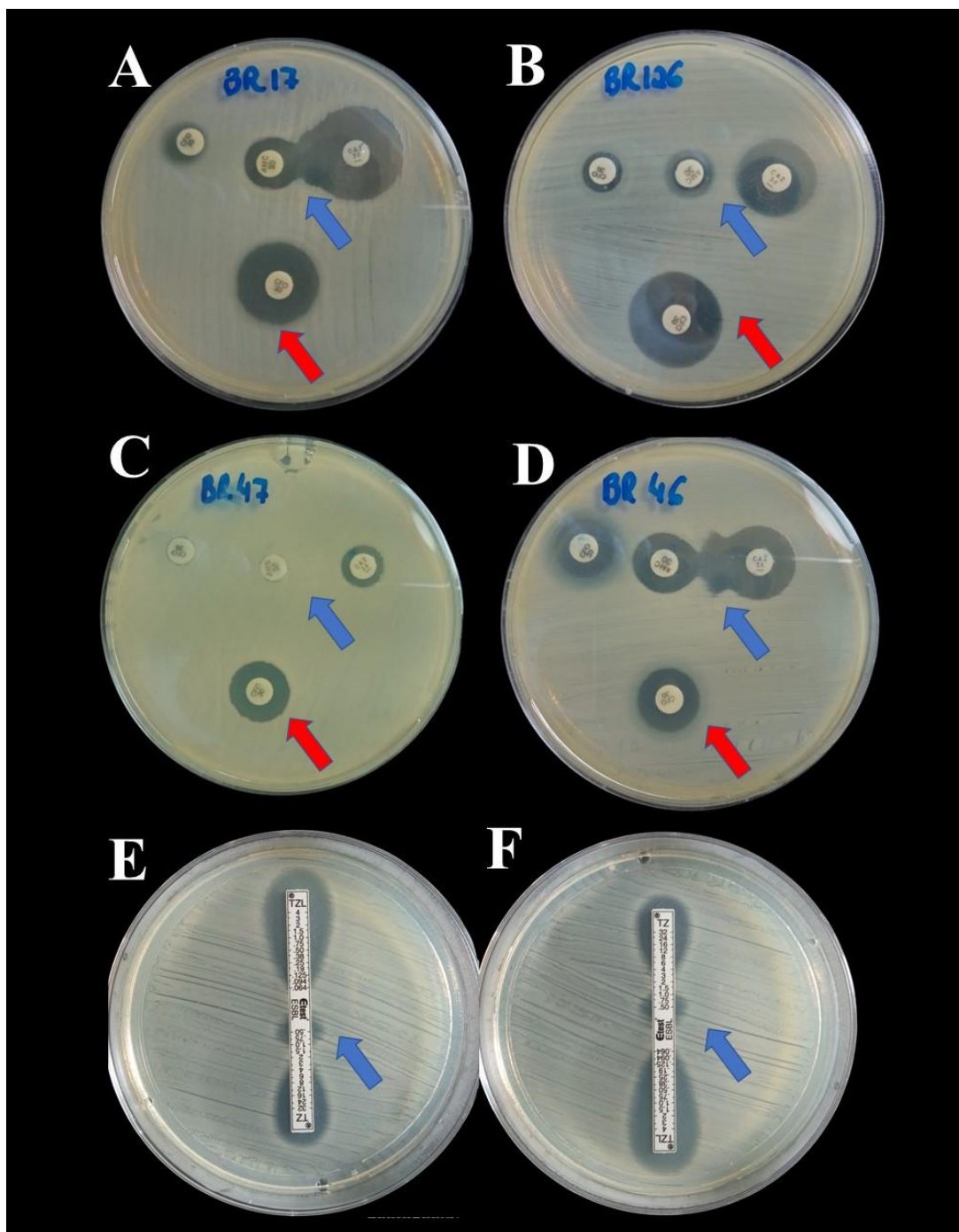


Figura 5 Confirmação fenotípica da presença das enzimas β -lactamases de espectro estendido (ESBL) e β -lactamases AmpC (AmpC) isoladas de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG, Belo Horizonte, Brasil. A placa A, apresenta um isolado de urina onde a seta azul indica a presença de zona fantasma entre os discos de Amoxicilina + Ác. Clavulânico (AMC) e Ceftadizima (CAZ), sugerindo sinergia de disco de aproximação. Na seta vermelha, indica a presença da sinergia de disco duplo de cefoxitina-cloxacilina (CFO) entre os discos de cefoxitina e cefoxitina com cloxacilina. As placas B e C, isolados de ferida cirúrgica, demonstram a presença de sinergia de disco duplo (seta azul), e a ausência da zona fantasma (seta vermelha). A Placa D, isolado de urina, revela a zona fantasma na seta azul e ausência de sinergia de disco duplo na seta vermelha. As placas E e F, isolados de urina, representam a mesma estirpe apresentada nas placas A e D. Pode-se notar, que as duas estirpes apresentaram alguma zona de deformação ou zona fantasma (seta azul) para a cefalosporina de terceira geração, confirmando a presença de ESBL.

6 DISCUSSÃO

Existem poucos estudos buscando associar sensibilidade antimicrobiana, filogrupos e fatores de virulência de *E. coli* isoladas de cães com dados clínico-epidemiológico dos animais afetados (HUTTON et al., 2018; BORTOLAMI et al., 2019). Em adição, sabe-se pouco da epidemiologia de ExPEC em cães no Brasil (SIQUEIRA et al., 2009; OSUGUI et al., 2014). Dessa forma, o presente estudo buscou avaliar a associação de dados clínico-epidemiológicos dos animais com os grupos filogenéticos, perfis de virulência e resistência antimicrobiana, incluindo a presença das enzimas ESBL e AmpC, de estirpes de *E. coli* extraintestinal isoladas de cães atendidos no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG, Brasil.

O presente estudo não encontrou associação entre idade, raça e sexo e as siferentes infecções extraintestinais causadas por *E. coli*. De forma similar, Qekwana *et al.*, (2018) não encontraram associação significativa entre infecção urinária por *E. coli* e a idade em cães. Por outro lado, alguns trabalhos sugerem uma maior predisposição a infecções urinárias em cadelas principalmente devido a diferenças anatômicas, similar ao também descrito em seres humanos (STIFFLER et al., 2006; MORAES et al., 2014; CHERVET et al., 2018).

Embora o não tenha identificado nenhuma associação de infecção por ExPEC e internação, metade das estirpes avaliadas foram obtidas de animais internados. Um trabalho realizado nos Estados Unidos com amostras urinárias de cães e gatos, sugeriu que pacientes infectados por ExPEC tem mais chance de necessitar de internação no momento da infecção principalmente por estarem mais gravemente doentes (HUTTON et al., 2018). Além disso, cães internados são mais propensos a adquirir infecções nosocomiais, incluindo infecção por *E. coli* produtoras de ESBL (LECUYER et al., 2018).

Entre os leucogramas obtidos, 48% dos animais apresentavam leucocitose, um achado clínico-laboratorial frequentemente associado à infecções bacterianas (JITPEAN et al., 2016; PUNIA, 2018). Tal resultado caracteriza uma resposta imune aguda contra a infecção, provavelmente causada pelas toxinas bacterianas que estimulam o aumento das células inflamatórias no sangue (CHABOT-RICHARDS; GEORGE, 2014). Um trabalho recente, que investigou a prevalência de *E. coli* intrauterinas em vacas holandesas no período pré e pós parto no Brasil, relatou a ocorrência de leucocitose por neutrofilia em todas as vacas amostradas (DE CÁSSIA BICUDO et al., 2019). Deve-se enfatizar que

leucocitose é um achado também comum em casos de infecções por *E. coli* extraintestinais em humanos (JOHNSON et al., 2003b).

Apenas 18 prontuários indicavam o desfecho do quadro, dos quais oito (44%) vieram a óbito. Estudos prévios tem relatado a associação de óbito, inclusive de casos de morte súbitas, e infecções por ExPEC em cães, gatos, cavalos, animais selvagens e humanos (HANDT et al., 2003; SMITH; FRATAMICO; GUNTHER, 2007; DEBROY et al., 2008; CARVALLO et al., 2010; BROOKS et al., 2013). Nesse aspecto, as ExPEC destacam-se pelo potencial risco letal justamente pelos fatores de virulência que apresentam e as altas taxas de resistência das infecção nosocomial do estudo (PITOUT, 2012).

Técnicas que diferenciam os grupos filogenéticos e identificam a presença de genes de virulência têm sido amplamente utilizadas em estudos com *E. coli* com o objetivo de elucidar melhor a epidemiologia desse patógeno (CLERMONT et al., 2013). No presente estudo, o filogrupo B2 foi estatisticamente superior aos demais filogrupos. Este resultado é similar ao relatado por outros autores que destacaram a predominância do filogrupo B2 em animais e seres humanos com quadros de infecção extraintestinal por *E. coli* (HARADA et al., 2012; LIU; THUNGRAT; BOOTHE, 2016; LECUYER et al., 2018; VALAT et al., 2020; COURA et al., 2021), enquanto isolados do trato gastrointestinal de animais saudáveis tendem a ser classificados em outros filogrupos (DAMBORG; NIELSEN; GUARDABASSI, 2009; HUTTON et al., 2018; OSUGUI et al., 2014; WAGNER; GALLY; ARGYLE, 2014). Em contrapartida, outros estudos observaram uma maior prevalência do filogrupo C (ZOGG et al., 2018b). Estudos sugerem que estirpes extraintestinais colecionam uma gama maior de genes de virulência quando comparados com isolados comensais intestinais, o que justificaria sua capacidade de colonizar diferentes sítios (VALENTIN et al., 2014; MANGES et al., 2019).

Até o momento, já foram identificados mais de 50 fatores de virulência de *E. coli* associados a infecções extraintestinais, codificando adesinas, toxinas, sideróforos, antígenos capsulares e invasinas (SPURBECK et al., 2012; JOHNSON et al., 2015). Os principais determinantes de virulência de ExPEC em cães incluem as fimbrias do tipo 1 (*fim*), pilus associado a pielonefrite (*pap*), fimbrias S (*sfa*) α -hemolisina (*hlyA*), aerobactina (*iutA*) e fator citotóxico necrosante tipo 1 (*cnf1*) (FÉRIA et al., 2002; SIQUEIRA et al., 2009; KÖHLER; DOBRINDT, 2011; OSUGUI et al., 2014; DALE; WOODFORD, 2015).

No presente estudo, alguns dos genes de virulência foram detectados em mais de 80% das estirpes, como as adesinas *focG*, *fimH*, a toxina *cnfI* e o receptor de aerobactina *iutA* (Tabela 7). Estudos sugerem que a adesão via fimbrias e adesinas é uma parte essencial na infecção por *E. coli* em sítios extraintestinais, permitindo a expressão dos demais mecanismos de virulência (KLEMM; HANCOCK; SCHEMBRI, 2010). Um estudo recente com estirpes de *E. coli* oriundas da urina de cães e gatos demonstrou que genes associados a adesina associavam-se a um maior risco de internação (HUTTON et al., 2018). Embora o presente estudo não tenha achado associação entre hospitalização e fatores de virulência, vale ressaltar que todas as amostras isoladas dos 25 animais hospitalizados continham adesinas fimbriais do tipo 1 (*fimH*). As fimbrias tipo 1 são fundamentais para colonização da estirpe no epitélio da bexiga (ANTÃO; WIELER; EWERS, 2009) e seus receptores são encontrados também em diversos outros tecidos do organismo, o que pode favorecer a colonização bacteriana e conseqüentemente, promoção de quadros clínicos extraintestinais (MATEUS et al., 2013).

As fimbrias do tipo P, codificadas pelos genes *papC* e *papG* e associadas a ocorrência de urosepsia em humanos e animais de estimação (MAYNARD et al., 2004; RAMOS et al., 2010), foram encontradas em 36% e 66% dos isolados extraintestinais, respectivamente. Ainda, as fimbrias do tipo S codificadas pelo gene *sfas*, capaz de favorecer a disseminação da bactéria no tecido do hospedeiro, foi encontrada em apenas 6% dos isolados em humanos com infecção urinária (FIROOZEH et al., 2014). Além disso, essas fimbrias são frequentemente relatadas em estirpes responsáveis por meningite e ITUs ascendentes, incluindo pielonefrite ou sepse em humanos (BIEN; SOKOLOVA; BOZKO, 2012; MALEKZADEGAN et al., 2018).

As toxinas são importantes fatores de virulência que contribuem para a invasão, disseminação e persistência bacteriana das bactérias (LEE et al., 2016). No presente estudo, 44 estirpes (88%) foram positivas para o gene *cnfI*, resultado superior encontrado por Johnson et al., (2003a) em cães. O *cnfI* codifica uma toxina capaz de causar a morte apoptótica de células epiteliais na bexiga, além de facilitar a invasão bacteriana da corrente sanguínea (OELSCHLAEGER; DOBRINDT; HACKER, 2002; EMODY; KERÉNYI; NAGY, 2003). Estudos em cães relataram ainda uma associação com diarreia e mortalidade de filhotes (TURCHETTO et al., 2015) e infecções no trato urinário (STARČIČ et al., 2002; JOHNSON et al., 2003a). De forma similar, o *cnfI* também têm sido implicadas em infecções no trato urinário, além de quadros de meningite (MARINI et al., 2004). Além disso, grande parte das estirpes *cnfI* positivas (65% - 26/44)

pertenciam ao filogrupo B2, similar a trabalhos anteriores que indicaram que estirpes CNF1 do filogrupo B2 estão associadas a diarreia e mortalidade em cachorros (TURCHETTO et al., 2015).

Entre as demais toxinas pesquisadas, a toxina α -hemolisina codificada pelo gene *hyla* foi identificada em 54% dos isolados. Essa toxina está envolvida em danos teciduais e comprometimento das respostas imunes locais (TARCHOUNA et al., 2013). Outra toxina importante nas infecções extraintestinais é a proteína uropatogênica específica (*usp*) que foi encontrada em 48% dos isolados desse estudo. Esse gene de virulência está associado mais frequentemente em estirpes associadas à pielonefrite do que à cistite (KANAMARU et al., 2003).

Adicionalmente às adesinas e toxinas, o marcador de sideróforo de aerobactina (*iutA*), importante na manutenção da bactéria em ambientes com baixas concentração de ferro, foi encontrado em 86% dos isolados nesse estudo. Esta frequência é semelhante a um estudo realizado no Irã em pacientes humanos com infecções do trato urinário (MALEKZADEGAN et al., 2018). No entanto, o dado obtido é maior do que relatadas anteriormente em animais, sugerindo uma variação geográfica e também entre hospedeiros (VALAT et al., 2020).

O gene codificador da proteína de membrana externa (*traT*), encontrado em 64% dos isolados do presente trabalho, possui capacidade de resistência sérica devido à proteína da membrana externa e tem papel importante no desenvolvimento principalmente de infecções urinárias. Tal resultado é superior quando comparado com estudos em isolados uropatogênicos de cães e gatos na Suíça (ZOGG et al., 2018a). Em um trabalho que teve como objetivo investigar as características de virulência de estirpes de *E. coli* isoladas de urina em humanos, demonstrou que o gene associado à resistência sérica (*traT*) foi o mais prevalente (OLIVEIRA et al., 2011).

Uma proporção considerável dos isolados foi resistente as penicilinas (52% - 26/50), sulfonamidas e tetraciclinas (48% - 24/50, ambos), enquanto a maioria das estirpes foi sensível a carbapenêmicos (98% - 49/50) e nitromidazólicos (96% - 48/50). Apesar de existirem trabalhos relatando diferentes níveis de resistência de isolados de *E. coli* em cães (CUMMINGS; APREA; ALTIER, 2015; SAPUTRA et al., 2017), os resultados obtidos no presente trabalho corroboram com alguns estudos (OSUGUI et al., 2014; MASSELLA et al., 2021) e confirmam o grande desafio imposto no tratamento das infecções por *E. coli* na clínica de pequenos.

Osugui *et al.*, (2014) também relataram maiores percentuais de resistência de *E. coli* isolados de urina de cães e gatos, para tetraciclinas e ampicilinas. De forma similar, um estudo recente na Itália, avaliou estirpes de *E. coli* oriundas de animais de produção, animais de companhia, silvestres, alimentos e humanos, relatando taxa de resistência semelhante ao nosso estudo (MASSELLA *et al.*, 2021). Deve-se destacar, ainda, que a resistência as penicilinas e tetraciclinas é frequentemente relatada também em isolados de cães e gatos saudáveis (WEDLEY *et al.*, 2011; BOURNE; CHONG; GORDON, 2019).

A disseminação da resistência entre as estirpes à tetraciclinas, sulfonamidas e penicilinas pode ser explicada principalmente pelo uso indiscriminado de antimicrobianos em animais de produção, animais de companhia, e também em seres humanos (WEESE *et al.*, 2019; COURTICE; SNIATYNSKI; RUBIN, 2021). De fato, betalactâmicos, sobretudo penicilinas, e as tetraciclinas são os antimicrobianos mais usados em pequenos animais, principalmente pela segurança, espectro, disponibilidade além das propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas favoráveis (BORTOLAMI *et al.*, 2019).

É interessante mencionar ainda que estirpes do filogrupo B2 no presente estudo apresentaram menor resistência quando comparadas com outros filogrupos ($p < 0,005$). Esse achado corrobora com estudos anteriores que demonstraram que, apesar de mais virulento, o filogrupo B2 tende a ser mais susceptível aos antimicrobianos (WAGNER; GALLY; ARGYLE, 2014; VALAT *et al.*, 2020). Nesse contexto, Flament-Simon *et al.* (2020), em um estudo com amostras fecais de cães saudáveis na Espanha, demonstraram que os isolados multirresistentes pertenciam principalmente aos filogrupos B1, D e E. De fato, estudos sugerem que estirpes resistentes comumente originam-se de populações menos virulentas devido aos custos de adaptação (BECEIRO; TOMÁS; BOU, 2013).

Quase um terço dos isolados do presente estudo (32% - 16/50) foram resistentes às fluorquinolonas, frequência relativamente alta quando comparado a estudos anteriores em diversos países (LECUYER *et al.*, 2018), incluindo Brasil (OSUGUI *et al.*, 2014). É interessante mencionar que 68,75% (11/16) das estirpes resistentes fluorquinolonas pertenciam aos filogrupos não-B2. Estudos anteriores demonstraram que, historicamente, os isolados de *E. coli* resistentes a fluoquinilonas eram desproporcionalmente de grupos filogenéticos não-B2 (JOHNSON *et al.*, 2009). No entanto, estirpes resistentes à fluoroquinolona pertencentes ao grupo filogenético B2, aumentaram sua prevalência entre humanos e surgiram como uma causa de infecção extraintestinal em cães

(PLATELL et al., 2011). Vale ressaltar ainda que todas as estirpes resistentes a fluorquinolonas no presente estudo foram também classificadas como multirresistentes (resistentes a três classes ou mais), o que, de acordo com a literatura, torna o tratamento desses animais bastante desafiador (COOKE et al., 2002; SHAHEEN et al., 2011). Além disso, 68% (11/16) desses isolados resistentes a fluorquinolonas pertenciam a infecções urinárias. Nesse sentido, destaca-se que essa classe antimicrobiana deve ser utilizada em cistite esporádica com cautela e com respaldo de testes de sensibilidade antimicrobiana (WEESE et al., 2019).

A resistência aos carbapenêmicos em bactérias de origem animal é um assunto de grande preocupação já que essa classe antimicrobiana costuma ser o último recurso para tratar infecções por microrganismos Gram-negativos multirresistentes na medicina veterinária e na medicina humana (KÖCK et al., 2018; POIREL et al., 2018; SMITH et al., 2019). No presente estudo, somente uma amostra foi resistente a carbapenêmicos (2%). Similarmente a este achado, um estudo realizado na França com isolados de *E. coli* do trato urinário demonstrou altas taxas de susceptibilidades aos carbapenêmicos (VALAT et al., 2020). No Brasil, um estudo anterior, embora realizado de amostras fecais de cães antes da admissão do animal no hospital, também encontrou altas taxas de susceptibilidade a essa classe (SALGADO-CAXITO et al., 2021). De fato a resistência aos carbapenêmicos, que ocorre devido a expressão de uma carbapenemase capaz de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas, monobactamas e carbapenêmicos, parece pouco frequente em cães (ABRAHAM et al., 2014; KÖCK et al., 2018). Apesar da frequência de *E. coli* resistente a carbapenêmicos ser maior em seres humanos, as taxas ainda permanecem baixas e tais drogas permanecem como uma boa alternativa nessa espécie para tratamento de infecções por *E. coli* resistentes aos antimicrobianos de primeira escolha (MURATANI et al., 2009).

De forma similar aos carbapenêmicos, a frequência de isolados resistentes a nitromidazólicos também foi baixa (2%). Mesmo entre os isolados classificados como multirresistentes, 80% (20/25) mostraram-se sensíveis a esse antimicrobiano. Essa frequência é similar a encontrada em trabalhos anteriores com isolados de ExPEC isoladas de cães e gatos no Japão (SHIMIZU et al., 2017) e mesmo em trabalhos com isolados de seres humanos (ZYKOV et al., 2016). Graças a essa baixa frequência de resistência, a nitrofurantoina continua sendo comumente indicada para o tratamento empírico das infecções no trato urinário (TASBAKAN et al., 2012).

Um em cada quatro isolados de *E. coli* avaliados no presente estudo foi confirmado produtor de ESBL (26%), frequência consideravelmente maior do que a encontrada em estudos semelhantes na Holanda (2%), França (5,3%), e Reino Unido (7%), e também com isolados extraintestinais de animais de estimação (DIERIKX et al., 2012; TIMOFTE et al., 2016; VALAT et al., 2020; MARCHETTI et al., 2021). Por outro lado, porncetuais de ESBL similares foram relatados por Zogg et al., (2018) e Bortolami et al., (2019) em estudos com amostras intestinais e extraintestinais em animais de companhia na Suíça e Reino Unido, respectivamente. Essas frequências discrepantes podem ser explicadas por diferenças geográficas que se traduzem em diferentes usos de antimicrobianos, não podendo ser descartados também diferenças metodológicas nos estudos.

A administração de antimicrobianos é um fator de risco comum para aquisição de bactérias resistentes a medicamentos em humanos e animais (RANTALA et al., 2004; SOARES MAGALHÃES et al., 2010; CANTÓN; BRYAN, 2012; GRÖNTHAL et al., 2014). No presente estudo, porém, a presença de estirpes produtoras de EBSL não foi associada ao histórico de uso prévio de antimicrobianos ou á hospitalização. Esse resultado contrasta com um estudo anterior que demonstrou que cães com histórico de terapia antimicrobiana tem maior risco de serem portadores de *E. coli* produtora de ESBL e produtora de AmpC (BELAS et al., 2014) e com trabalhos que demonstram uma associação entre animais internados e estirpes positivas para enzimas produtoras de ESBL (MAEYAMA et al., 2018). Acredita-se que essa diferença possa ter relação com o número amostral avaliado uma vez que poucos animais possuíam dados de uso de antimicrobianos disponíveis no prontuário, o que reduziu o poder de análise desse estudo.

As estirpes de *E. coli* produtoras de ESBL, por sua ampla resistência aos diversos beta-lactâmicos, apresentaram um perfil multirresistente. Porém, é ainda comum a presença de resistência cruzada a outros agentes antimicrobianos (LIU; THUNGRAT; BOOTHE, 2016). No presente estudo, a maioria das estirpes produtoras de ESBL (78,6%) foram resistentes a mais de cinco classes de antimicrobianos. Nesse contexto, destaca-se a resistência as penicilinas, cefalosporinas, fluorquinolonas, tetraciclinas e sulfanamidas. Estudos anteriores com estirpes de ESBL isoladas de cães também relataram alta resistência a fluorquinolonas, especificamente enrofloxacina (SHAHEEN et al., 2013; SHIMIZU et al., 2017). Deve-se enfatizar que animais de companhia, como cães, parecem desempenhar um papel importante na troca de determinantes de resistência antimicrobiana de populações bacterianas. Nesse contexto, o contato direto desses com os seus proprietários tem sido apontada como uma importante fator para a transmissão de

ESBL entre humanos e canídeos (JOHNSON; CLABOTS; KUSKOWSKI, 2008b; MARQUES et al., 2018), reforçando como a questão da resistência bacteriana em pequenos transcende a saúde animal, sendo também uma questão de saúde pública.

No presente estudo, 16% dos isolados foram classificados como produtores de AmpC. Esse dado corrobora com estudos realizados com isolados de *E. coli* do trato urinário de cães e gatos no Japão, os quais relataram uma prevalência de 21,3% (MAEYAMA et al., 2018). Em contrapartida, trabalhos recentes demonstraram prevalências ainda maiores dessa enzima em isolados de animais de companhia e equinos (BORTOLAMI et al., 2019). Sabe-se que tais isolados transportam cefalosporinases, codificadas em plasmídeos, que possuem um amplo espectro de resistência e não são inibidos por inibidores de β -lactamase, resultando em resistência a quase todos os agentes β -lactâmicos disponíveis (PITOUT, 2012). Embora a transferência dessas bactérias entre humanos e animais não sejam totalmente elucidadas, já foi demonstrado o compartilhamento de estirpes produtoras de AmpC idênticas entre humanos e cães da mesma família, sugerindo que eles podem atuar como reservatórios de bactérias resistentes (JOHNSON; CLABOTS; KUSKOWSKI, 2008a; LJUNGQUIST et al., 2016; MARQUES et al., 2018; TOOMBS-RUANE et al., 2020).

O surgimento de multirresistência em estirpes de *E. coli* causando infecções em cães é um grande desafio, comumente levando a falhas no tratamento e elevando o tempo de internação, custos e letalidade (FLORES-MIRELES et al., 2015). No presente estudo, a frequência de estirpes multiresistentes (50% - 25/50) foi maior que em estudos anteriores (MURPHY et al., 2009; MARCHETTI et al., 2021). Dos isolados multiresistentes, mais da metade (52% - 13/25) eram de animais com infecção nosocomial. Sabe-se que os isolados de infecções adquiridas em hospitais tendem a exibir perfis mais complexos com repertórios mais amplos de resistência em comparação com os isolados de infecções adquiridas na comunidade (CARVALHO et al., 2016).

Algumas limitações devem ser citadas no presente estudo. Os isolados foram obtidos de forma passiva, o que se traduziu em uma amostragem de conveniência. As informações clínicas dos pacientes foram obtidas de forma retrospectiva, o que reduziu bastante a obtenção de alguns dados clínico-epidemiológicos. Ainda nesse sentido, percebeu-se uma baixa padronização do preenchimento do prontuário médico, fazendo novamente com que muitas informações fossem perdidas ou não pudessem ser aproveitadas. Embora existam tais limitações, os dados obtidos são relevantes e inéditos, posto que contribuem para o conhecimento do padrão de virulência, resistência e filogenia

de estirpes de *E. coli* extraintestinal de cães no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG. Embora esses achados sejam baseados em uma única instituição, eles fornecem informações importantes sobre as tendências de infecções por *E. coli* extraintestinal no cenário brasileiro. Estudos prospectivos poderão ajudar na melhor compreensão na epidemiologia de *E. coli* extraintestinal em cães, além de fornecer informações de fatores de risco que são essenciais para a implementação protocolos de controle dessa doença.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou alta frequência em estirpes de *E. coli* pertencentes ao filogrupo B2 e carregadores de fatores de virulência associados a ExPEC em isolados de amostras extraintestinais de cães. Nenhuma associação específica entre fatores de virulência, origem dos isolados e dados clínico-epidemiológicos foi obtida. A alta taxa de estirpes multirresistentes observadas podem ser explicadas, principalmente pela presença de isolados produtoras de β -lactamases, como ESBL e AmpC. O filogrupo B2, apesar de concentrar um maior número de genes de resistência, tende a ser menos resistentes aos antimicrobianos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, S. et al. Carbapenemase-producing bacteria in companion animals: a public health concern on the horizon. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 5, p. 1155–1157, 1 maio 2014. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkt518>>.

ALKESKAS, A. et al. The molecular characterisation of Escherichia coli K1 isolated from neonatal nasogastric feeding tubes. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 449, 26 dez. 2015. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/15/449>>.

AMBLER, R. The structure of β -lactamases. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences**, v. 289, n. 1036, p. 321–331, 16 maio 1980. Disponível em: <<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.1980.0049>>.

ANTÃO, E.-M.; WIELER, L. H.; EWERS, C. Adhesive threads of extraintestinal pathogenic Escherichia coli. **Gut Pathogens**, v. 1, n. 1, p. 22, 2009. Disponível em: <<http://gutpathogens.biomedcentral.com/articles/10.1186/1757-4749-1-22>>.

BARCO, L. et al. A systematic review of studies on Escherichia coli and Enterobacteriaceae on beef carcasses at the slaughterhouse. **International Journal of Food Microbiology**, v. 207, p. 30–39, ago. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160515002305>>.

BECEIRO, A.; TOMÁS, M.; BOU, G. Antimicrobial Resistance and Virulence: a Successful or Deleterious Association in the Bacterial World? **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 2, p. 185–230, abr. 2013. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00059-12>>.

BELAS, A. et al. Risk factors for faecal colonisation with Escherichia coli producing extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in dogs. **Veterinary Record**, v. 175, n. 8, p. 202–202, ago. 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1136/vr.101978>>.

BIEN, J.; SOKOLOVA, O.; BOZKO, P. Role of Uropathogenic Escherichia coli Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. **International Journal of Nephrology**, v. 2012, p. 1–15, 2012. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ijn/2012/681473/>>.

BOERLIN, P.; WHITE, D. G. Antimicrobial Resistance and Its Epidemiology. In: **Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine**. [s.l.] Wiley, 2013. p. 21–40.

BOGAERTS, P. et al. Characterization of ESBL- and AmpC-Producing Enterobacteriaceae from Diseased Companion Animals in Europe. **Microbial Drug Resistance**, v. 21, n. 6, p. 643–650, dez. 2015. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2014.0284>>.

BORTOLAMI, A. et al. Diversity, Virulence, and Clinical Significance of Extended-Spectrum β -Lactamase- and pAmpC-Producing Escherichia coli From Companion Animals. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 5 jun. 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.01260/full>>.

BOURNE, J. A.; CHONG, W. L.; GORDON, D. M. Genetic structure, antimicrobial resistance and frequency of human associated Escherichia coli sequence types among faecal isolates from healthy dogs and cats living in Canberra, Australia. **PLOS ONE**, v. 14, n. 3, p. e0212867, 4 mar. 2019. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0212867>>.

BROOKS, J. W. et al. Fatal pneumonia caused by Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli (ExPEC) in a juvenile cat recovered from an animal hoarding incident. **Veterinary Microbiology**, v. 167, n. 3–4, p. 704–707, dez. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113513004148>>.

BUSH, K. Past and Present Perspectives on β -Lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 10, out. 2018. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01076-18>>.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated Functional Classification of β -Lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969–976, mar. 2010. Disponível em: <<https://aac.asm.org/content/54/3/969>>.

BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 6, p. 1211–1233, jun. 1995. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.39.6.1211>>.

CANTÓN, R.; BRYAN, J. Global antimicrobial resistance: from surveillance to stewardship. Part 2: stewardship initiatives. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 10, n. 12, p. 1375–1377, 10 dez. 2012. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/eri.12.140>>.

CARVALHO, A. C. et al. Resistance patterns, ESBL genes, and genetic relatedness of Escherichia coli from dogs and owners. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 150–158, jan. 2016. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1517838215000064>>.

CARVALLO, F. R. et al. Necrotizing Pneumonia and Pleuritis Associated with Extraintestinal Pathogenic Escherichia Coli in a Tiger (Panthera Tigris) Cub. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 22, n. 1, p. 136–140, 1 jan. 2010. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/104063871002200130>>.

CHABOT-RICHARDS, D. S.; GEORGE, T. I. Leukocytosis. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 36, n. 3, p. 279–288, jun. 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.12212>>.

CHAUDHURI, R. R.; HENDERSON, I. R. The evolution of the Escherichia coli phylogeny. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 2, p. 214–226, mar. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134812000068>>.

CHEN, H.; FRANKEL, G. Enteropathogenic Escherichia coli: unravelling pathogenesis. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 1, p. 83–98, jan. 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1016/j.femsre.2004.07.002>>.

CHERAYIL, B. J. The role of iron in the immune response to bacterial infection. **Immunologic Research**, v. 50, n. 1, p. 1–9, 16 maio 2011. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12026-010-8199-1>>.

CHERVET, D. et al. Antimicrobial resistance in community-acquired urinary tract infections in Paris in 2015. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 48, n. 3, p. 188–192, maio 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0399077X17300070>>.

CHROMA, M.; KOLAR, M. Genetic methods for detection of antibiotic resistance: Focus on extended-spectrum β -lactamases. **Biomedical Papers**, v. 154, n. 4, p. 289–296, 2010.

CLERMONT, O. et al. The Clermont Escherichia coli phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. **Environmental Microbiology Reports**, v. 5, n. 1, p. 58–65, fev. 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/1758-2229.12019>>.

CLERMONT, O. et al. Characterization and rapid identification of phylogroup G in Escherichia coli , a lineage with high virulence and antibiotic resistance potential. **Environmental Microbiology**, v. 21, n. 8, p. 3107–3117, 28 ago. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1462-2920.14713>>.

CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. Rapid and Simple

Determination of the *Escherichia coli* Phylogenetic Group. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 10, p. 4555–4558, 1 out. 2000. Disponível em: <<https://aem.asm.org/content/66/10/4555>>.

CLERMONT, O.; GORDON, D.; DENAMUR, E. Guide to the various phylogenetic classification schemes for *Escherichia coli* and the correspondence among schemes. **Microbiology**, v. 161, n. 5, p. 980–988, 1 maio 2015. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.000063>>.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M100-S22. v. Wayne: CLS, 2012.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, 5th Edition. v. VET01S Way, 2021.

COHEN, A. L. et al. Recommendations For Metrics For Multidrug-Resistant Organisms In Healthcare Settings: SHEA/HICPAC Position Paper. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 29, n. 10, p. 901–913, 2 out. 2008. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0195941700049067/type/journal_article>.

COOKE, C. L. et al. Enrofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from dogs with urinary tract infections. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 220, n. 2, p. 190–192, jan. 2002. Disponível em: <<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2002.220.190>>.

COQUE, T. M.; BAQUERO, F.; CANTON, R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. **Eurosurveillance**, v. 13, n. 47, p. 1–11, 2008.

COURA, F. M. et al. Detection of virulence genes and the phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolated from dogs in Brazil. **Ciência Rural**, v. 48, n. 2, 1 fev. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782018000200452&lng=en&tlng=en>.

COURA, F. M. et al. Virulence Genes Profile and Antimicrobial Susceptibility of Community-Acquired Bacterial Urinary Tract Infections in a Brazilian Hospital. **Current Microbiology**, v. 78, n. 11, p. 3913–3923, 14 nov. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s00284-021-02650-2>>.

COURTICE, R.; SNIATYNSKI, M.; RUBIN, J. E. Characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* causing urinary tract infections in dogs: Passive surveillance in Saskatchewan, Canada 2014 to 2018. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 3, p. 1389–1396, 10 maio 2021. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jvim.16103>>.

CROXEN, M. A.; FINLAY, B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 1, p. 26–38, 7 jan. 2010. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrmicro2265>>.

CUMMINGS, K. J.; APREA, V. A.; ALTIER, C. Antimicrobial resistance trends among canine *Escherichia coli* isolates obtained from clinical samples in the northeastern USA, 2004-2011. **The Canadian veterinary journal = La revue vétérinaire canadienne**, v. 56, n. 4, p. 393–8, abr. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25829560>>.

DALE, A. P.; WOODFORD, N. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones. **Journal of Infection**, v. 71, n. 6, p. 615–626, dez. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016344531500287X>>.

DAMBORG, P.; NIELSEN, S. S.; GUARDABASSI, L. *Escherichia coli* shedding patterns in humans and dogs: insights into within-household transmission of phylotypes associated with urinary tract infections. **Epidemiology and Infection**, v. 137, n. 10, p. 1457–1464, 10 out. 2009. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S095026880900226X/type/journal_article>.

DE CÁSSIA BICUDO, L. et al. Virulence factors and phylogenetic group profile of uterine *Escherichia coli* in early postpartum of high-producing dairy cows. **Animal Production Science**, v. 59, n. 10, p. 1898, 2019. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=AN17729>>.

DEBROY, C. et al. Bronchopneumonia Associated with Extraintestinal Pathogenic *Escherichia Coli* in a Horse. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, n. 5, p. 661–664, 1 set. 2008. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/104063870802000524>>.

DIERIKX, C. M. et al. Occurrence and characteristics of extended-spectrum- β -lactamase- and AmpC-producing clinical isolates derived from companion animals and horses. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 6, p. 1368–1374, jun. 2012. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dks049>>.

DOLEJSKA, M. et al. Characterization of IncN plasmids carrying blaCTX-M-1 and qnr genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* from animals, the environment and humans. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 2, p. 333–339, 1 fev. 2013.

Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dks387>>.

EDQUIST, P. et al. Phenotypic detection of plasmid-acquired AmpC in *Escherichia coli*—evaluation of screening criteria and performance of two commercial methods for the phenotypic confirmation of AmpC production. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 32, n. 9, p. 1205–1210, 3 set. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10096-013-1869-x>>.

EMODY, L.; KERÉNYI, M.; NAGY, G. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 22, n. SUPPL. 2, 2003.

ESCHERICH, T. The intestinal bacteria of the neonate and breast-fed infant. **Clinical Infectious Diseases**, v. 10, n. 6, p. 1220–1225, 1988.

EWERS, C. et al. Extended-spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 7, p. 646–655, jul. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14645596>>.

EWERS, C. et al. CTX-M-15-D-ST648 *Escherichia coli* from companion animals and horses: another pandemic clone combining multiresistance and extraintestinal virulence? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 5, p. 1224–1230, 1 maio 2014. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkt516>>.

FÉRIA, C. P. et al. Detection of Virulence Factors in Uropathogenic *Escherichia Coli* Isolated from Humans, Dogs and Cats in Portugal. In: **Genes and Proteins Underlying Microbial Urinary Tract Virulence**. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2002. p. 305–308.

FIROOZEH, F. et al. Detection of virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with cystitis and pyelonephritis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 29, p. 219–222, dez. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1201971214014878>>.

FLAMENT-SIMON, S.-C. et al. Molecular Characteristics of Extraintestinal Pathogenic *E. coli* (ExPEC), Uropathogenic *E. coli* (UPEC), and Multidrug Resistant *E. coli* Isolated from Healthy Dogs in Spain. Whole Genome Sequencing of Canine ST372 Isolates and Comparison with Human Isolates. **Microorganisms**, v. 8, n. 11, p. 1712, 31 out. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2607/8/11/1712>>.

FLORES-MIRELES, A. L. et al. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 5, p. 269–284, 8 maio 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrmicro3432>>.

FRATAMICO, P. M. et al. Advances in Molecular Serotyping and Subtyping of *Escherichia coli*†. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 3 maio 2016. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2016.00644/abstract>>.

GANDOLFI-DECRISTOPHORIS, P. et al. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in healthy companion animals living in nursing homes and in the community. **American Journal of Infection Control**, v. 41, n. 9, p. 831–835, set. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655313000527>>.

GORDON, D. M. et al. Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups : multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. v. 10, p. 2484–2496, 2008.

GRÖNTHAL, T. et al. Large Outbreak Caused by Methicillin Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71 in a Finnish Veterinary Teaching Hospital – From Outbreak Control to Outbreak Prevention. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. e110084, 15 out. 2014. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0110084>>.

GRÖNTHAL, T. et al. Sharing more than friendship – transmission of NDM-5 ST167 and CTX-M-9 ST69 *Escherichia coli* between dogs and humans in a family, Finland, 2015. **Eurosurveillance**, v. 23, n. 27, 5 jul. 2018. Disponível em: <<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.27.1700497>>.

GUARDABASSI, L. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria: Review. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 54, n. 2, p. 321–332, 1 jul. 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkh332>>.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, H. Principles of Prudent and Rational Use of Antimicrobials in Animals. In: **Guide to Antimicrobial Use in Animals**. [s.l.] Wiley, 2008. p. 1–12.

HANDT, L. K. et al. Clinical and microbiologic characterization of hemorrhagic pneumonia due to extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in four young dogs. **Comparative medicine**, v. 53, n. 6, p. 663–70, dez. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14727816>>.

HARADA, K. et al. Antimicrobial resistance, virulence profiles, and phylogenetic

groups of fecal *Escherichia coli* isolates: A comparative analysis between dogs and their owners in Japan. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 35, n. 2, p. 139–144, mar. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014795711100124X>>.

HORDIJK, J. et al. High prevalence of fecal carriage of extended spectrum β -lactamase/AmpC-producing Enterobacteriaceae in cats and dogs. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, 2013. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2013.00242/abstract>>.

HUBER, H. et al. ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Switzerland. **Veterinary Microbiology**, v. 162, n. 2–4, p. 992–996, mar. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113512005688>>.

HUGHES, L. A. et al. Cross-sectional survey of antimicrobial prescribing patterns in UK small animal veterinary practice. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 104, n. 3–4, p. 309–316, maio 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587711003606>>.

HUTTON, T. A. et al. Phylogroup and virulence gene association with clinical characteristics of *Escherichia coli* urinary tract infections from dogs and cats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 30, n. 1, p. 64–70, 3 jan. 2018. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1040638717729395>>.

IACG. Não Há Tempo a Perder: Acautelar O Futuro Contra Infecções Resistentes Aos Medicamentos. **Relatório Para O Secretário Geral Das Nações Unidas Abril De 2019**, p. 1–4, 2019. Disponível em: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/interagency-coordination-group/IACG_final_summary_PT.pdf>.

JACOBY, G. A. AmpC β -Lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 22, n. 1, p. 161–182, jan. 2009. Disponível em: <<https://cmr.asm.org/content/22/1/161>>.

JARLIER, V. et al. Extended Broad-Spectrum β -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer β -Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns. **Clinical Infectious Diseases**, v. 10, n. 4, p. 867–878, 1 jul. 1988. Disponível em: <<https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/clinids/10.4.867>>.

JITPEAN, S. et al. Closed cervix is associated with more severe illness in dogs with pyometra. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 11, 5 dez. 2016. Disponível em: <<http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-016-0924-0>>.

JOHNSON, J. R. et al. Identification of Urovirulence Traits in *Escherichia coli* by Comparison of Urinary and Rectal *E. coli* Isolates from Dogs with Urinary Tract Infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 337–345, 1 jan. 2003a. Disponível em: <<http://jcm.asm.org/cgi/doi/10.1128/JCM.41.1.337-345.2003>>.

JOHNSON, J. R. et al. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* as a Cause of Invasive Nonurinary Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5798–5802, dez. 2003b. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.41.12.5798-5802.2003>>.

JOHNSON, J. R. et al. Virulence genotypes and phylogenetic background of fluoroquinolone-resistant and susceptible *Escherichia coli* urine isolates from dogs with urinary tract infection. **Veterinary Microbiology**, v. 136, n. 1–2, p. 108–114, abr. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113508004823>>.

JOHNSON, J. R. et al. Host Characteristics and Bacterial Traits Predict Experimental Virulence for *Escherichia coli* Bloodstream Isolates From Patients With Urosepsis. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 2, n. 3, 1 set. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ofid/article/doi/10.1093/ofid/ofv083/2460242>>.

JOHNSON, J. R.; CLABOTS, C.; KUSKOWSKI, M. A. Multiple-Host Sharing, Long-Term Persistence, and Virulence of *Escherichia coli* Clones from Human and Animal Household Members. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 12, p. 4078–4082, dez. 2008a. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00980-08>>.

JOHNSON, J. R.; CLABOTS, C.; KUSKOWSKI, M. A. Multiple-Host Sharing, Long-Term Persistence, and Virulence of *Escherichia coli* Clones from Human and Animal Household Members. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 12, p. 4078–4082, 1 dez. 2008b. Disponível em: <<https://jcm.asm.org/content/46/12/4078>>.

JOHNSON, J. R.; RUSSO, T. A. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* : “The other bad *E. coli* ”. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 139, n. 3, p. 155–162, mar. 2002. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022214302331263>>.

JOHNSON, J. R.; RUSSO, T. A. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 295, n. 6–7, p. 383–404, out. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422105000998>>.

JOHNSON, J. R.; STELL, A. L. Extended Virulence Genotypes of *Escherichia coli*

Strains from Patients with Urosepsis in Relation to Phylogeny and Host Compromise. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 181, n. 1, p. 261–272, jan. 2000. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/315217>>.

KANAMARU, S. et al. Distribution and Genetic Association of Putative Uropathogenic Virulence Factors Iron, iha, kpsMT, ompT and usp in Escherichia Coli Isolated From Urinary Tract Infections in Japan. **Journal of Urology**, v. 170, n. 6, p. 2490–2493, dez. 2003. Disponível em: <<http://www.jurology.com/doi/10.1097/01.ju.0000094185.48467.dc>>.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123–140, fev. 2004. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrmicro818>>.

KAUFFMANN, F. The serology of the coli group. **J Immunol.**, v. 1, p. 71–100, 1947.

KIDSLEY, A. K. et al. Genomic Analysis of Phylogenetic Group B2 Extraintestinal Pathogenic E. coli Causing Infections in Dogs in Australia. **Veterinary Microbiology**, p. 108783, jul. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113520304326>>.

KLEMM, P.; HANCOCK, V.; SCHEMBRI, M. A. Fimbrial adhesins from extraintestinal Escherichia coli. **Environmental Microbiology Reports**, v. 2, n. 5, p. 628–640, out. 2010. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1758-2229.2010.00166.x>>.

KÖCK, R. et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 24, n. 12, p. 1241–1250, dez. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X18303392>>.

KÖHLER, C.-D.; DOBRINDT, U. What defines extraintestinal pathogenic Escherichia coli? **International Journal of Medical Microbiology**, v. 301, n. 8, p. 642–647, dez. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422111000920>>.

KRAWCZYK, B. et al. Characterisation of Escherichia coli isolates from the blood of haematological adult patients with bacteraemia: translocation from gut to blood requires the cooperation of multiple virulence factors. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 34, n. 6, p. 1135–1143, 6 jun. 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10096-015-2331-z>>.

LAGARDE, M. et al. Prevalence, risk factors, and characterization of multidrug resistant and extended spectrum β -lactamase/AmpC β -lactamase producing *Escherichia coli* in healthy horses in France in 2015. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 2, p. 902–911, 15 mar. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jvim.15415>>.

LECUYER, T. E. et al. Population Structure and Antimicrobial Resistance of Canine Uropathogenic *Escherichia coli*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 56, n. 9, 11 jul. 2018. Disponível em: <<https://jcm.asm.org/content/56/9/e00788-18>>.

LEE, J. H. et al. Phylogenetic group distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infections in South Korea. **Letters in Applied Microbiology**, v. 62, n. 1, p. 84–90, jan. 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/lam.12517>>.

LEIMBACH, A.; HACKER, J.; DOBRINDT, U. *E. coli* as an All-Rounder: The Thin Line Between Commensalism and Pathogenicity. In: [s.l: s.n.]p. 3–32.

LIU, X. et al. High Prevalence of β -lactamase and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in Extended-Spectrum Cephalosporin-Resistant *Escherichia coli* from Dogs in Shaanxi, China. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 16 nov. 2016. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01843/full>>.

LIU, X.; THUNGRAT, K.; BOOTHE, D. M. Occurrence of OXA-48 Carbapenemase and Other β -Lactamase Genes in ESBL-Producing Multidrug Resistant *Escherichia coli* from Dogs and Cats in the United States, 2009–2013. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 11 jul. 2016. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2016.01057/abstract>>.

LJUNGQUIST, O. et al. Evidence of household transfer of ESBL-/pAmpC-producing Enterobacteriaceae between humans and dogs – a pilot study. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 6, n. 1, p. 31514, 20 jan. 2016. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3402/iee.v6.31514>>.

MAEYAMA, Y. et al. Prevalence of ESBL/AmpC genes and specific clones among the third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae from canine and feline clinical specimens in Japan. **Veterinary Microbiology**, v. 216, p. 183–189, mar. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113518300488>>.

MALEKZADEGAN, Y. et al. Distribution of virulence genes and their association with antimicrobial resistance among uropathogenic *Escherichia coli* isolates from Iranian

patients. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 572, 15 dez. 2018. Disponível em: <<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-018-3467-0>>.

MANGES, A. R. et al. Global Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli (ExPEC) Lineages. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 3, 12 jun. 2019. Disponível em: <<https://cmr.asm.org/content/32/3/e00135-18>>.

MAO, B.-H. et al. Identification of Escherichia coli Genes Associated with Urinary Tract Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 2, p. 449–456, 1 fev. 2012. Disponível em: <<https://jcm.asm.org/content/50/2/449>>.

MARCHETTI, L. et al. Pet and Stray Dogs as Reservoirs of Antimicrobial-Resistant Escherichia coli. **International Journal of Microbiology**, v. 2021, p. 1–8, 25 jan. 2021. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2021/6664557/>>.

MARINI, R. P. et al. Characterization of Hemolytic Escherichia coli Strains in Ferrets: Recognition of Candidate Virulence Factor CNF1. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 12, p. 5904–5908, dez. 2004. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.42.12.5904-5908.2004>>.

MARQUES, C. et al. Increase in antimicrobial resistance and emergence of major international high-risk clonal lineages in dogs and cats with urinary tract infection: 16 year retrospective study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 2, p. 377–384, 1 fev. 2018. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article/73/2/377/4609341>>.

MASSELLA, E. et al. Antimicrobial Resistance Profile and ExPEC Virulence Potential in Commensal Escherichia coli of Multiple Sources. **Antibiotics**, v. 10, n. 4, p. 351, 26 mar. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6382/10/4/351>>.

MATEUS, L. et al. Virulence genotypes of Escherichia coli canine isolates from pyometra, cystitis and fecal origin. **Veterinary Microbiology**, v. 166, n. 3–4, p. 590–594, out. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113513003805>>.

MAYNARD, C. et al. Heterogeneity among Virulence and Antimicrobial Resistance Gene Profiles of Extraintestinal Escherichia coli Isolates of Animal and Human Origin. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 12, p. 5444–5452, dez. 2004. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.42.12.5444-5452.2004>>.

MCDANIELS, A. E. et al. Confirmational identification of Escherichia coli, a comparison of genotypic and phenotypic assays for glutamate decarboxylase and beta-D-glucuronidase. **Applied and environmental microbiology**, v. 62, n. 9, p. 3350–3354,

1996. Disponível em: <<https://aem.asm.org/content/62/9/3350>>.

MCMEEKIN, C. et al. Antimicrobial resistance patterns of bacteria isolated from canine urinary samples submitted to a New Zealand veterinary diagnostic laboratory between 2005–2012. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 65, n. 2, p. 99–104, 4 mar. 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00480169.2016.1259594>>.

MEINI, S. et al. AmpC β -lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know. **Infection**, v. 47, n. 3, p. 363–375, 6 jun. 2019. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s15010-019-01291-9>>.

MICHAEL, G. B. et al. Extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolates collected from diseased food-producing animals in the GERM-Vet monitoring program 2008–2014. **Veterinary Microbiology**, v. 200, p. 142–150, fev. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113516302644>>.

MORAES, D. et al. Prevalence of uropathogens and antimicrobial susceptibility profile in outpatient from Jataí-GO. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 50, n. 3, 2014. Disponível em: <<http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1676-2444.20140015>>.

MULVEY, M. A. Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. **Cellular Microbiology**, v. 4, n. 5, p. 257–271, maio 2002. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1462-5822.2002.00193.x>>.

MÜNCH, B.; WOCHENSCHR, T.; GRAM-, E. B. E. Extended-spectrum beta-lactamases- producing Gram-negative bacteria in companion animals : action is clearly warranted ! **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 4, p. 94–101, 2011.

MURPHY, C. et al. Occurrence of antimicrobial resistant bacteria in healthy dogs and cats presented to private veterinary hospitals in southern Ontario: A preliminary study. **The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne**, v. 50, n. 10, p. 1047–53, out. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20046603>>.

MURPHY, C. P. et al. Out-patient antimicrobial drug use in dogs and cats for new disease events from community companion animal practices in Ontario. **The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne**, v. 53, n. 3, p. 291–8, mar. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22942447>>.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheogenic *Escherichia coli*. v. 11, n. 1, p. 142–201, 1998.

OELSCHLAEGER, T. A.; DOBRINDT, U.; HACKER, J. Virulence factors of uropathogens. **Current Opinion in Urology**, v. 12, n. 1, p. 33–38, jan. 2002. Disponível em: <<http://journals.lww.com/00042307-200201000-00007>>.

OLIVEIRA, F. A. et al. Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* strains. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 4, p. 4114–4125, 2011. Disponível em: <<http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2011/vol10-4/pdf/gmr1396.pdf>>.

ORI, E. L. et al. Diarrhoeagenic *Escherichia coli* and *Escherichia albertii* in Brazil: pathotypes and serotypes over a 6-year period of surveillance. **Epidemiology and Infection**, v. 147, p. e10, 19 set. 2019. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268818002595/type/journal_article>.

OSUGUI, L. et al. Virulence genotypes, antibiotic resistance and the phylogenetic background of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections of dogs and cats in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 171, n. 1–2, p. 242–247, jun. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113514001771>>.

PATERSON, D. . Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 6, n. 9, p. 460–463, set. 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14631505>>.

PATERSON, D. L. Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n. 6, p. S20–S28, jun. 2006. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934306003445>>.

PEREZ-PEREZ, F. J.; HANSON, N. D. Detection of Plasmid-Mediated AmpC - Lactamase Genes in Clinical Isolates by Using Multiplex PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 6, p. 2153–2162, 1 jun. 2002. Disponível em: <<http://jcm.asm.org/cgi/doi/10.1128/JCM.40.6.2153-2162.2002>>.

PHILIPPON, A.; ARLET, G.; JACOBY, G. A. Plasmid-Determined AmpC-Type β -Lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 1, p. 1–11, jan. 2002. Disponível em: <<https://aac.asm.org/content/46/1/1>>.

PICARD, B. et al. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli*

extraintestinal infection. **Infection and immunity**, v. 67, n. 2, p. 546–53, fev. 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9916057>>.

PIRAS, C. et al. Mechanisms of antibiotic resistance to enrofloxacin in uropathogenic *Escherichia coli* in dog. **Journal of Proteomics**, v. 127, p. 365–376, set. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187439191530035X>>.

PITCHER, D. G.; SAUNDERS, N. A.; OWEN, R. J. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. **Letters in Applied Microbiology**, v. 8, n. 4, p. 151–156, abr. 1989. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1472-765X.1989.tb00262.x>>.

PITOUT, J. D. D. Infections with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. **Drugs**, v. 70, n. 3, p. 313–333, fev. 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.2165/11533040-000000000-00000>>.

PITOUT, J. D. D. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: A Combination of Virulence with Antibiotic Resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, 2012. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2012.00009/abstract>>.

PLATELL, J. L. et al. Commonality among Fluoroquinolone-Resistant Sequence Type ST131 Extraintestinal *Escherichia coli* Isolates from Humans and Companion Animals in Australia. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 8, p. 3782–3787, ago. 2011. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.00306-11>>.

POIREL, L. et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 4, 27 jul. 2018. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>>.

PUNIA, M. Haemato-Biochemical Alterations in Dogs Afflicted with Urinary Tract Infection. **Journal of Animal Research**, v. 8, n. 5, 26 out. 2018. Disponível em: <<http://ndpublisher.in/ndpjournal.php?j=JAR&tab=currentIssue>>.

QEKWANA, D. N. et al. Antimicrobial resistance among *Escherichia coli* isolates from dogs presented with urinary tract infections at a veterinary teaching hospital in South Africa. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 228, 31 dez. 2018. Disponível em: <<https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-018-1552-7>>.

RAMOS, N. L. et al. Genetic relatedness and virulence gene profiles of *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and uroseptic patients. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 29, n. 1, p. 15–23, 8 jan. 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10096-009-0809-2>>.

RANTALA, M. et al. Antimicrobial resistance in Staphylococcus spp., Escherichia coli and Enterococcus spp. in dogs given antibiotics for chronic dermatological disorders, compared with non-treated control dogs. **Acta veterinaria Scandinavica**, v. 45, n. 1–2, p. 37–45, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15535085>>.

RAWAT, D.; NAIR, D. Extended-spectrum β -lactamases in gram negative bacteria. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 2, n. 3, p. 263, 2010. Disponível em: <<http://www.jgid.org/text.asp?2010/2/3/263/68531>>.

REEVES, P. R. et al. Rates of Mutation and Host Transmission for an Escherichia coli Clone over 3 Years. **PLoS ONE**, v. 6, n. 10, p. e26907, 27 out. 2011. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0026907>>.

REYGAERT, W. C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482–501, 2018. Disponível em: <<http://www.aimspress.com/article/10.3934/microbiol.2018.3.482>>.

RON, E. Z. Distribution and evolution of virulence factors in septicemic Escherichia coli. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, n. 6, p. 367–370, ago. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422110000366>>.

SALGADO-CAXITO, M. et al. Risk factors associated with faecal carriage of extended-spectrum cephalosporin-resistant Escherichia coli among dogs in Southeast Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 190, p. 105316, maio 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016758772100060X>>.

SAMBROOK, J. **Molecular cloning: a laboratory manual**. [s.l.] Cold spring harbor laboratory press, 1989.

SAPUTRA, S. et al. Antimicrobial resistance in clinical Escherichia coli isolated from companion animals in Australia. **Veterinary Microbiology**, v. 211, p. 43–50, nov. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113517304200>>.

SAROWSKA, J. et al. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic Escherichia coli isolated from different sources: recent reports. **Gut Pathogens**, v. 11, n. 1, p. 10, 21 dez. 2019. Disponível em: <<https://gutpathogens.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13099-019-0290-0>>.

SAVIOLLI, J. Y. et al. Free-Ranging Frigates (Fregata magnificens) of the Southeast Coast of Brazil Harbor Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli Resistant to Antimicrobials. **PLOS ONE**, v. 11, n. 2, p. e0148624, 4 fev. 2016. Disponível em:

<<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0148624>>.

SCHAUFLER, K. et al. Putative connection between zoonotic multiresistant extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in dog feces from a veterinary campus and clinical isolates from dogs. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 5, n. 1, p. 25334, 4 jan. 2015. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3402/iee.v5.25334>>.

SCHWABER, M. J. et al. Clinical and Economic Impact of Bacteremia with Extended- Spectrum- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 4, p. 1257–1262, abr. 2006. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.50.4.1257-1262.2006>>.

SHAHEEN, B. W. et al. Evaluation of the contribution of *gyrA* mutation and efflux pumps to fluoroquinolone and multidrug resistance in pathogenic *Escherichia coli* isolates from dogs and cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 1, p. 25–32, jan. 2011. Disponível em: <<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/ajvr.72.1.25>>.

SHAHEEN, B. W. et al. Chromosomal and plasmid-mediated fluoroquinolone resistance mechanisms among broad-spectrum-cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from companion animals in the USA. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 5, p. 1019–1024, maio 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dks514>>.

SHIMIZU, T. et al. In vitro efficacy of 16 antimicrobial drugs against a large collection of β -lactamase-producing isolates of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* from dogs and cats. **Journal of Medical Microbiology**, v. 66, n. 8, p. 1085–1091, 1 ago. 2017. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000535>>.

SHIN, N.-R.; WHON, T. W.; BAE, J.-W. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. **Trends in Biotechnology**, v. 33, n. 9, p. 496–503, set. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779915001390>>.

SHORR, A. F. Review of studies of the impact on Gram-negative bacterial resistance on outcomes in the intensive care unit*. **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 4, p. 1463–1469, abr. 2009. Disponível em: <<http://journals.lww.com/00003246-200904000-00041>>.

SINGLETON, D. A. et al. Patterns of antimicrobial agent prescription in a sentinel population of canine and feline veterinary practices in the United Kingdom. **The Veterinary Journal**, v. 224, p. 18–24, jun. 2017. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023317300722>>.

SIQUEIRA, A. K. et al. Virulence factors in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection and pyometra cases and from feces of healthy dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 86, n. 2, p. 206–210, abr. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528808001719>>.

SMITH, A. et al. Usage patterns of carbapenem antimicrobials in dogs and cats at a veterinary tertiary care hospital. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 4, p. 1677–1685, 22 jul. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jvim.15522>>.

SMITH, J. L.; FRATAMICO, P. M.; GUNTHER, N. W. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 4, n. 2, p. 134–163, jun. 2007. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2007.0087>>.

SO, J. H. et al. Dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* in Korean veterinary hospitals. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 73, n. 2, p. 195–199, jun. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0732889312001022>>.

SOARES MAGALHÃES, R. J. et al. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in dogs and cats: a case-control study. **Veterinary Research**, v. 41, n. 5, p. 55, 29 set. 2010. Disponível em: <<http://www.vetres.org/10.1051/vetres/2010028>>.

SOUSA, C. P. The versatile strategies of *Escherichia coli* pathotypes: a mini review. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 12, n. 3, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1678-91992006000300002&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

SPURBECK, R. R. et al. *Escherichia coli* Isolates That Carry *vat*, *fyuA*, *chuA*, and *yfcV* Efficiently Colonize the Urinary Tract. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 12, p. 4115–4122, dez. 2012. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.00752-12>>.

STARČIČ, M. et al. Haemolytic *Escherichia coli* isolated from dogs with diarrhea have characteristics of both uropathogenic and necrotoxigenic strains. **Veterinary Microbiology**, v. 85, n. 4, p. 361–377, abr. 2002. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113502000032>>.

STATA, C. Stata statistical software: Release 12. **Special Edition**, v. 201, n. 1,

2011.

STIFFLER, K. S. et al. Prevalence and Characterization of Urinary Tract Infections in Dogs with Surgically Treated Type 1 Thoracolumbar Intervertebral Disc Extrusion. **Veterinary Surgery**, v. 35, n. 4, p. 330–336, jun. 2006. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1532-950X.2006.00153.x>>.

SUN, Y. et al. High prevalence of blaCTX-M extended-spectrum β -lactamase genes in Escherichia coli isolates from pets and emergence of CTX-M-64 in China. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 16, n. 9, p. 1475–1481, set. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14606960>>.

TADESSE, D. A. et al. Antimicrobial Drug Resistance in Escherichia coli from Humans and Food Animals, United States, 1950–2002. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 5, p. 741–749, maio 2012. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/18/5/11-1153_article.htm>.

TAN, T. Y. et al. Evaluation of Screening Methods To Detect Plasmid-Mediated AmpC in Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Proteus mirabilis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 146–149, jan. 2009. Disponível em: <<https://aac.asm.org/content/53/1/146>>.

TARCHOUNA, M. et al. Distribution of uropathogenic virulence genes in Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 6, p. e450–e453, jun. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1201971213000775>>.

TASBAKAN, M. I. et al. Nitrofurantoin in the treatment of extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli-related lower urinary tract infection. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 40, n. 6, p. 554–556, dez. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857912003378>>.

TENAILLON, O. et al. The population genetics of commensal Escherichia coli. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 207–217, mar. 2010. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrmicro2298>>.

TERLIZZI, M. E.; GRIBAUDO, G.; MAFFEI, M. E. UroPathogenic Escherichia coli (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 15 ago. 2017. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.01566/full>>.

THOMPSON, M. F. et al. Canine bacterial urinary tract infections: New developments in old pathogens. **The Veterinary Journal**, v. 190, n. 1, p. 22–27, out.

2011. Disponível em:
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023310004004>>.

THRUSFIELD, M. et al. **Veterinary Epidemiology**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2018.

TIMOFTE, D. et al. Veterinary Hospital Dissemination of CTX-M-15 Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* ST410 in the United Kingdom. **Microbial Drug Resistance**, v. 22, n. 7, p. 609–615, out. 2016. Disponível em:
<<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2016.0036>>.

TOOMBS-RUANE, L. et al. Multidrug resistant Enterobacteriaceae in New Zealand: a current perspective. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 65, n. 2, p. 62–70, 4 mar. 2017. Disponível em:
<<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00480169.2016.1269621>>.

TOOMBS-RUANE, L. J. et al. Carriage of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase and AmpC Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains from Humans and Pets in the Same Households. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 86, n. 24, 9 out. 2020. Disponível em: <<https://aem.asm.org/content/86/24/e01613-20>>.

TOURRET, J.; DENAMUR, E. Population Phylogenomics of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. In: **Urinary Tract Infections**. Washington, DC, USA: ASM Press, 2016. p. 207–233.

TRABULSI, L; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. [s.l: s.n.]

TRAMUTA, C. et al. Virulence factors and genetic variability of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Italy. **Journal of Veterinary Science**, v. 12, n. 1, p. 49, 2011. Disponível em:
<<https://vetsci.org/DOIx.php?id=10.4142/jvs.2011.12.1.49>>.

TURCHETTO, S. et al. Phenotypic features and phylogenetic background of extraintestinal hemolytic *Escherichia coli* responsible of mortality in puppies. **Veterinary Microbiology**, v. 179, n. 1–2, p. 126–130, ago. 2015. Disponível em:
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037811351500108X>>.

UKAH, U. V. et al. Risk factors for acquisition of multidrug-resistant *Escherichia coli* and development of community-acquired urinary tract infections. **Epidemiology and Infection**, v. 146, n. 1, p. 46–57, 12 jan. 2018. Disponível em:
<https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268817002680/type/journal_article>.

VALAT, C. et al. Pathogenic *Escherichia coli* in Dogs Reveals the Predominance

of ST372 and the Human-Associated ST73 Extra-Intestinal Lineages. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 21 abr. 2020. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2020.00580/full>>.

VALENTIN, L. et al. Subgrouping of ESBL-producing *Escherichia coli* from animal and human sources: An approach to quantify the distribution of ESBL types between different reservoirs. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 304, n. 7, p. 805–816, out. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422114000976>>.

VAN DEN BUNT, G. et al. Faecal carriage, risk factors, acquisition and persistence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in dogs and cats and co-carriage with humans belonging to the same household. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 75, n. 2, p. 342–350, 1 fev. 2020. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article/75/2/342/5621361>>.

WAGNER, S.; GALLY, D. L.; ARGYLE, S. A. Multidrug-resistant *Escherichia coli* from canine urinary tract infections tend to have commensal phylotypes, lower prevalence of virulence determinants and ampC-replicons. **Veterinary Microbiology**, v. 169, n. 3–4, p. 171–178, mar. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113514000248>>.

WANG, Y. et al. Genetic diversity, antimicrobial resistance and extended-spectrum β -lactamase type of *Escherichia coli* isolates from chicken, dog, pig and yak in Gansu and Qinghai Provinces, China. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 22, p. 726–732, set. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213716520301739>>.

WEDLEY, A. L. et al. Prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in dogs in a cross-sectional, community-based study. **Veterinary Record**, v. 168, n. 13, p. 354–354, abr. 2011. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1136/vr.d1540>>.

WEESE, J. S. et al. Antimicrobial Use Guidelines for Treatment of Urinary Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. **Veterinary Medicine International**, v. 2011, p. 1–9, 2011. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/vmi/2011/263768/>>.

WEESE, J. S. et al. International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. **The Veterinary Journal**, v. 247, p. 8–25, maio 2019.

Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S109002331830460X>>.

WIELER, L. H. et al. Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in companion animals: Nosocomial infections as one reason for the rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical sampl. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 301, n. 8, p. 635–641, dez. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422111000956>>.

ZOGG, A. L. et al. Antimicrobial resistance, multilocus sequence types and virulence profiles of ESBL producing and non-ESBL producing uropathogenic Escherichia coli isolated from cats and dogs in Switzerland. **Veterinary Microbiology**, v. 216, p. 79–84, mar. 2018a. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113517311185>>.

ZOGG, A. L. et al. High Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamase Producing Enterobacteriaceae Among Clinical Isolates From Cats and Dogs Admitted to a Veterinary Hospital in Switzerland. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, 27 mar. 2018b. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fvets.2018.00062/full>>.

ZYKOV, I. N. et al. The antimicrobial activity of mecillinam, nitrofurantoin, temocillin and fosfomicin and comparative analysis of resistance patterns in a nationwide collection of ESBL-producing Escherichia coli in Norway 2010–2011. **Infectious Diseases**, v. 48, n. 2, p. 99–107, 1 fev. 2016. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/23744235.2015.1087648>>.

9 APÊNDICE

Tabela 9 Relação do perfil de sensibilidade antimicrobiana, grupo filogenético, genes de virulência e presença de enzimas β -lactamases ESBL e AmpC de 50 estirpes de *E. coli* extraintestinais de cães

| Amostra | Antimicrobianos | | | | | | | | | | | | | | Número de classes resistentes | Filogrupo | Genes de virulencia | ESBL | AmpC |
|---------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------------------------------|-----------|--|------|------|
| | AMC | AMP | CFO | CFT | CIP | DOX | ENO | GEN | IPM | MPM | NEO | NIT | OXI | SUT | | | | | |
| BR14 | S | S | R | R | R | R | R | S | S | S | I | R | R | R | 7 | E | <i>focG, cnf1</i> | ESBL | AmpC |
| BR17 | I | R | S | R | R | I | R | R | S | S | I | S | R | R | 7 | F | <i>traT, iutA, focG, papG, cnf1</i> | ESBL | 0 |
| BR74 | I | R | S | R | R | R | R | R | S | S | I | S | R | R | 7 | C | <i>fimH, traT, iutA, focG, papG, cnf1, usp</i> | ESBL | 0 |
| BR30 | R | R | S | R | R | I | R | R | S | S | I | I | I | R | 6 | A | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, cnf1, usp</i> | ESBL | 0 |
| BR46 | I | R | I | I | R | R | R | R | S | S | S | I | R | R | 6 | A | <i>fimH, traT, iutA, focG, cnf1,</i> | ESBL | 0 |
| BR47 | R | R | R | R | R | R | R | S | S | S | I | S | R | R | 6 | A | <i>fimH, traT, iutA, focG, papG, cnf1</i> | 0 | AmpC |
| BR82 | R | R | R | I | R | S | R | I | S | S | I | S | R | R | 6 | F | <i>fimH, traT, iutA, papC, focG, papG, cnf1</i> | 0 | AmpC |
| BR87 | I | R | S | I | R | R | R | R | S | S | S | S | R | R | 6 | A | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, papG, cnf1, usp</i> | ESBL | 0 |
| BR115 | R | R | I | R | I | I | I | S | R | I | R | S | R | R | 6 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | 0 | 0 |
| BR126 | R | R | R | S | R | I | R | I | S | S | S | S | R | R | 6 | B2 | <i>fimH, iutA, hlyA, focG, cnf1, usp</i> | 0 | AmpC |
| BR11 | I | R | S | R | R | R | R | S | S | S | I | I | R | I | 5 | B2 | <i>fimH, iutA, hlyA, focG, sfaS, usp</i> | ESBL | 0 |
| BR23 | S | R | S | I | R | S | R | S | S | S | I | S | R | R | 5 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, focG, cnf1</i> | ESBL | 0 |
| BR24 | I | R | S | I | R | I | R | S | S | S | I | S | R | R | 5 | F | <i>fimH, traT, iutA, focG, usp</i> | ESBL | 0 |
| BR39 | R | R | S | S | R | I | R | R | S | S | S | S | R | S | 5 | C | <i>fimH, traT, iutA, focG, cnf1</i> | N/R | N/R |
| BR40 | S | R | S | R | R | I | R | S | S | S | I | I | R | S | 5 | B2 | <i>papG</i> | ESBL | N/R |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|--|------|------|
| BR75 | S | R | S | S | R | I | R | I | S | S | S | S | R | R | 5 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, focG, papG, cnf1,</i> | N/R | N/R |
| BR171 | I | R | S | R | R | S | R | R | I | S | I | S | S | S | 5 | B1 | <i>fimH, traT, iutA, focG, cnf1</i> | ESBL | 0 |
| BR90 | I | R | S | R | S | I | I | S | S | S | I | S | R | R | 4 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | ESBL | 0 |
| BR114 | I | R | S | R | S | I | I | S | S | S | I | S | R | R | 4 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | ESBL | 0 |
| BR13 | R | R | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | 3 | B2 | <i>fimH, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | 0 | 0 |
| BR20 | S | R | S | S | I | R | I | S | S | I | I | S | R | R | 3 | B2 | <i>fimH, traT, focG, usp</i> | N/R | N/R |
| BR45 | R | R | S | I | I | S | I | S | S | S | I | S | R | R | 3 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, papG, cnf1</i> | ESBL | N/R |
| BR111 | I | R | S | S | S | R | S | S | S | S | I | S | R | R | 3 | C | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, papG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR170 | R | R | S | S | S | I | S | S | S | S | S | S | R | R | 3 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1</i> | N/R | N/R |
| BR180 | I | R | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | R | R | 3 | B2 | <i>fimH, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR77 | R | R | R | I | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 2 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, focG, papG, cnf1</i> | 0 | AmpC |
| BR116 | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | I | I | S | R | 2 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR155 | S | S | S | S | S | R | S | S | S | S | I | S | R | R | 2 | B2 | <i>fimH, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1</i> | N/R | N/R |
| BR22 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | R | 1 | B2 | <i>fimH, iutA, focG, cnf1,</i> | N/R | N/R |
| BR41 | S | S | I | S | S | I | S | S | S | S | I | S | R | S | 1 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | N/R | AmpC |
| BR42 | I | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | S | 1 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1</i> | N/R | N/R |
| BR9 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, sfaS, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR26 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, iutA, focG, papG, cnf1,</i> | N/R | N/R |
| BR28 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, focG, papG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR76 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | 0 | B1 | <i>fimH, traT, iutA, focG, papG, cnf1</i> | N/R | N/R |
| BR88 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | 0 | B2 | <i>fimH, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|-----|------|
| BR91 | S | I | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B1 | <i>fimH, traT, iutA, focG, papG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR110 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | D | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, papG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR125 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B2 | - | N/R | N/R |
| BR139 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | F | <i>fimH, iutA, hlyA, focG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR142 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1</i> | N/R | N/R |
| BR143 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1</i> | N/R | N/R |
| BR144 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B1 | <i>fimH, traT</i> | N/R | N/R |
| BR153 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | 0 | B2 | <i>iutA, focG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR154 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | I | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, traT, iutA, hlyA, focG, papG, cnf1</i> | N/R | N/R |
| BR165 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR166 | S | S | S | S | I | S | I | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1</i> | N/R | 0 |
| BR167 | S | S | I | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, iutA, hlyA, papC, focG, papG, cnf1</i> | N/R | AmpC |
| BR179 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | I | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, iutA, focG, cnf1, usp</i> | N/R | N/R |
| BR8 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | 0 | B2 | <i>fimH, traT, hlyA, papC, focG, papG, sfas, cnf1</i> | N/R | N/R |

ANEXO A



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão

Cadastro nº A38536F

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **A38536F**
 Usuário: **Universidade Federal de Minas Gerais**
 CPF/CNPJ: **17.217.985/0001-04**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso:
 Pesquisa Científica **Bioprospecção** **Desenvolvimento Tecnológico**

Espécie**Escherichia coli**

Título da Atividade: **Isolamento e caracterização de estirpes de Escherichia coli isoladas de animais e do ambiente**

Equipe**Rodrigo Otávio Silveira Silva****Universidade Federal de Minas Gerais****Resultados Obtidos****Divulgação de resultados em meios científicos ou de comunicação**

Identificação do meio onde foi divulgado: **Coura et al. (2018): <http://dx.doi.org/10.1590/011>**

Data do Cadastro: **16/08/2018 15:42:33**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **9:07** de **10/08/2020**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**