

**Perfil de resistência à antimicrobianos da classe dos Beta-lactâmicos e Aminoglicosídeos em cepas de *Escherichia coli* isoladas entre janeiro de 2015 e dezembro de 2018**

**Antimicrobial resistance profile of the Beta-lactams and Aminoglycosides class in *Escherichia coli* strains isolated between january 2015 and december 2018**

DOI:10.34117/bjdv8n7-198

Recebimento dos originais: 23/05/2022

Aceitação para publicação: 30/06/2022

**Rômulo Salignac Araújo de Faria**

Graduando de Medicina Veterinária pela Universidade de Brasília (UNB)

Instituição: Universidade de Brasília (UNB)

Endereço: Brasília - DF, CEP: 70910-900

E-mail: rsalignac.af@gmail.com

**Simone Perecmanis**

Doutora em Patologia Molecular

Instituição: Universidade de Brasília (UNB)

Endereço: Brasília - DF, CEP: 70910-900

E-mail: perecmaniss@unb.br

**Ernane de Paiva Ferreira Novais**

Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal da Universidade de Brasília (UNB)

Instituição: Universidade de Brasília (UNB)

Endereço: Brasília - DF, CEP: 70910-900

E-mail: ernanedepaiva@gmail.com

**Maurício Macedo Rodrigues**

Mestre em Patologia Molecular pela Universidade de Brasília (UNB)

Instituição: Universidade de Brasília (UNB)

Endereço: Brasília - DF, CEP: 70910-900

E-mail: mauriciomacedo@unb.br

**Cléia Nunes Malheiro de Oliveira**

Mestre em Gestão Pública pela Universidade de Brasília (UNB)

Instituição: Universidade de Brasília (UNB)

Endereço: Brasília - DF, CEP: 70910-900

**Thaís Cardoso Lettieri**

Residente em Doenças Infecciosas e Parasitárias dos Animais pela Universidade de Brasília (UNB)

Instituição: Universidade de Brasília (UNB)

Endereço: Brasília - DF, CEP: 70910-900

**Tairine Melo Costa**

Residente em Doenças Infecciosas e Parasitárias dos Animais pela Universidade de Brasília (UNB)

Instituição: Universidade de Brasília (UNB)

Endereço: Brasília - DF, CEP: 70910-900

E-mail: tairine\_melo@hotmail.com

**Fernando Ribeiro Ramos**

Residente em Doenças Infecciosas e Parasitárias dos Animais pela Universidade de Brasília (UNB)

Instituição: Universidade de Brasília (UNB)

Endereço: Brasília - DF, CEP: 70910-900

E-mail: fernando.ribeiro00@hortmail.com

**RESUMO**

A descoberta dos antimicrobianos revolucionou a prática médica, permitindo o tratamento de doenças que antes eram incuráveis e permitindo o controle de infecções hospitalares. Além disso, eles auxiliam na diminuição de infecções em feridas e sítios cirúrgicos, permitindo, assim, a sobrevivência de pacientes e realização de procedimentos cirúrgicos mais complexos. De encontro a isso, o fenômeno da resistência aos antimicrobianos tem por principais consequências a diminuição da eficácia clínica dos princípios ativos, aumento dos custos de tratamento e da mortalidade em infecções. Essa define-se por: habilidade de um microrganismo, como as bactérias, de resistir aos efeitos de um medicamento antimicrobiano. A *Escherichia coli* representa o maior reservatório de genes de resistência dentre as bactérias e, além disso, pode atuar como doador e receptor desses genes, desempenhando um papel importante para a disseminação dos genes de resistência. Foram utilizados dados relativos à 51 amostras positivas para *Escherichia coli* processadas no Laboratório de Microbiologia Médica Veterinária da FAV/UnB, provenientes dos Hospitais-Escola para Animais de Pequeno e Grande Porte da Universidade de Brasília, referentes ao período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018, totalizando 58 bactérias isoladas. As amostras foram recebidas, semeadas em meio de cultura de acordo com o Procedimento Operacional Padrão (POP) do laboratório. Após isso, foram utilizadas para identificação, características de crescimento (produção de hemólise, pigmento e características morfo-tintoriais), bem como a identificação bioquímica das amostras. Somado a isso, foi realizado o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, por meio do método de disco-difusão em ágar (Método de Kirby-Bauer). O perfil de resistência foi traçado utilizando o resultado do antibiograma para os antimicrobianos pertencentes a classe dos beta-lactâmicos e aminoglicosídeos. Em relação ao tipo de amostra recebida, observa-se que as mais frequentes são: Urina - 41,18% (21/51), Fragmento de órgãos oriundos de necropsia - 9,80% (5/51), Cerúmen - 7,84% (4/51), Swab de superfície ocular - 3,92% (2/51) e Lavado traqueal - 3,92% (2/51). Os animais acometidos foram: Caninos - 39,22% (20/51), Animais Silvestres - 35,29% (18/51), Felinos - 19,61% (10/51), Bovinos - 3,92% (2/51) e Equinos 1,96% (1/51). No tocante a multirresistência, foi observado que 22,41% (13/58) das bactérias apresentaram a resistência a apenas um antimicrobiano, 20,69% (12/58) apresentaram a resistência a dois antimicrobianos, 17,24% (10/58) bactérias apresentaram a resistência a três antimicrobianos e apenas 1,72% (1/58) bactéria apresentou a resistência a quatro antimicrobianos. Além disso, evidencia-se que nenhuma bactéria apresentou resistência a mais de quatro antimicrobianos, 12,06% (7/58) das bactérias foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados e o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos não foi realizado em 25,86% (15/58) dos casos. Em

relação à resistência aos antimicrobianos pertencentes aos beta-lactâmicos, os resultados foram agrupados em dois grupos, as penicilinas e as cefalosporinas. Referente ao primeiro grupo, podemos observar: Penicilina G – 100% (5/5), Amoxicilina – 72,2% (13/18), Amoxicilina + Clavulanato – 16,7% (3/18) e Ampicilina + Sulbactam – 17,61% (4/17). As cefalosporinas, por sua vez, apresentaram os seguintes resultados: Cefalexina (CFE) – 38,46% (5/13), Cefalotina (CFL) – 70% (14/20), Ceftriaxona (CRO) – 16,67% (2/12), Cefoxitina (FOX) – 40% (2/5), Ceftadizima (CAZ) – 33,33% (1/3), Ceftiofur (CTF) – 0% (0/2), Cefepime (CPM) – 0% (0/1) e Cefetaxima (CTX) – 0% (0/1). No tocante aos aminoglicosídeos, nota-se que: Amicacina (AMI) – 0% (0/11), Estreptomicina (EST) – 50% (2/4), Gentamicina (GEN) – 29,16% (7/24), Neomicina (NEO) – 40% (2/5) e Tobramicina (TOB) – 100% (1/1). Os percentuais elevados de resistência aos antimicrobianos ressaltam o quão preocupante é esse fenômeno. É importante ressaltar que o tratamento empírico, aquele que é realizado sem a orientação de um antibiograma, pode contribuir para a seleção de bactérias resistentes e representou 25,68% dos casos. Os antimicrobianos que são mais utilizados rotineiramente, como as penicilinas, apresentaram percentuais de resistência muito elevados, entretanto, quando associados à inibidores de beta-lactamases, tiveram a sua eficácia aumentada significativamente. Em relação às cefalosporinas e os aminoglicosídeos, com exceção da cefalotina e cefalexina, apresentaram baixas porcentagens de resistência. Entretanto, é importante que sejam utilizados de maneira consciente, a fim de preservar a sua eficácia. É importante realizar um estudo aprofundado, para identificar os genes de resistência presentes nos isolados bacterianos, com o intuito de compreender a extensão do problema e monitorar a sua evolução.

**Palavras-chave:** resistência, antimicrobianos, beta-lactâmicos, penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos, *Escherichia coli*.

## ABSTRACT

The discovery of antimicrobials revolutionized medical practice, allowing the treatment of diseases that were previously incurable and allowing the control of hospital infections. In addition, they help to reduce infections in wounds and surgical sites, thus allowing patients to survive and perform more complex surgical procedures. Against this, the phenomenon of resistance to antimicrobials has as main consequences the decrease in the clinical efficacy of the active principles, increased treatment costs, and increased mortality from infections. This is defined by: the ability of a microorganism, such as bacteria, to resist the effects of an antimicrobial drug. *Escherichia coli* represents the largest reservoir of resistance genes among bacteria and, in addition, it can act as a donor and recipient of these genes, playing an important role in the dissemination of resistance genes. Data related to 51 positive samples for *Escherichia coli* processed at the Laboratory of Veterinary Medical Microbiology of the FAV/UnB, from the School Hospitals for Small and Large Animals of the University of Brasília, for the period from January 2015 to December 2018, totaling 58 isolated bacteria. Samples were received, seeded in culture medium according to the laboratory's Standard Operating Procedure (SOP). After that, growth characteristics (production of hemolysis, pigment, and morpho-tinctorial characteristics), as well as the biochemical identification of the samples, were used for identification. In addition, the antimicrobial susceptibility test was performed using the agar disk-diffusion method (Kirby-Bauer method). The resistance profile was drawn using the result of the antibiogram for antimicrobials belonging to the class of beta-lactams and aminoglycosides. Regarding the type of sample received, the most frequent are: Urine – 41.18% (21/51), Fragment of organs from necropsy – 9.80% (5/51), Cerumen – 7, 84% (4/51), Ocular surface swab –

3.92% (2/51) and Tracheal lavage - 3.92% (2/51). most frequent are: Urine - 41.18% (21/51), Fragment of organs from necropsy - 9.80% (5/51), Cerumen - 7.84% (4/51), Ocular surface swab - 3.92% (2/51) and Tracheal lavage - 3.92% (2/51). The affected animals were: Canines - 39.22% (20/51), Wild Animals - 35.29% (18/51), Cats - 19.61% (10/51), Cattle - 3.92% (2 /51) and Equines 1.96% (1/51). Regarding multi-resistance, it was observed that 22.41% (13/58) of the bacteria were resistant to only one antimicrobial, 20.69% (12/58) were resistant to two antimicrobials, 17.24% (10/ 58) bacteria showed resistance to three antimicrobials and only 1.72% (1/58) bacteria showed resistance to four antimicrobials. In addition, it is evident that no bacteria showed resistance to more than four antimicrobials, 12.06% (7/58) of the bacteria were sensitive to all tested antimicrobials and the antimicrobial susceptibility test was not performed in 25.86% (15/58) of the cases. Regarding resistance to antimicrobials belonging to beta-lactams, the results were grouped into two groups, penicillins (graph 1) and cephalosporins. Regarding the first group, we can observe: Penicillin G - 100% (5/5), Amoxicillin - 72.2% (13/18), Amoxicillin + Clavulanate - 16.7% (3/18) and Ampicillin + Sulbactam - 17.61% (4/17). Cephalosporins, in turn, presented the following results: Cephalexin (CFE) -38.46% (5/13), Cephalothin (CFL) - 70% (14/20), Ceftriaxone (CRO) - 16.67% ( 2/12), Cefoxitin (FOX) - 40% (2/5), Ceftazidime (CAZ) - 33.33% (1/3), Cefotiofur (CTF) - 0% (0/2), Cefepime (CPM) – 0% (0/1) and Cephalexime (CTX) – 0% (0/1). With regard to aminoglycosides, note that: Amikacin (AMI) - 0% (0/11), Streptomycin (EST) - 50% (2/4), Gentamicin (GEN) - 29.16% (7/24), Neomycin (NEO) – 40% (2/5) and Tobramycin (TOB) – 100% (1/1). The high percentages of resistance to antimicrobials highlight how worrying this phenomenon is. It is important to emphasize that empirical treatment, which is performed without the guidance of an antibiogram, can contribute to the selection of resistant bacteria and represented 25.68% of cases. Antimicrobials that are more routinely used, such as penicillin's, showed very high percentages of resistance, however, when associated with beta-lactamase inhibitors, their efficacy was significantly increased. About cephalosporins and aminoglycosides, except for cephalothin and cephalexin, they presented low percentages of resistance. However, they must be used conscientiously to preserve their effectiveness. It is important to carry out an in-depth study to identify the resistance genes present in bacterial isolates, to understand the extent of the problem, and monitor its evolution.

**Keywords:** resistance, antimicrobials, antimicrobial resistance, beta-lactams, aminoglycosides, *Escherichia coli*.

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 HISTÓRICO

A descoberta dos antimicrobianos foi responsável por moldar o século XX e revolucionou a prática médica, permitindo o tratamento de doenças que antes eram incuráveis e permitindo o controle de infecções hospitalares. Além disso, auxiliam na diminuição de infecções em feridas e sítios cirúrgicos, permitindo, assim, a sobrevivência de pacientes e realização de procedimentos cirúrgicos mais complexos, consolidando a base da medicina moderna. A primeira substância com atividade antimicrobiana foi descoberta

por Paul Ehrlich (1854-1915) e Sahachiro Hata (1873-1938) em 1909, denominada Arsfenamina, também conhecida como Salvarsan, foi apelidada de “a bala mágica” para o tratamento da Sífilis, infecção sexualmente transmissível (IST) causada pela bactéria *Treponema pallidum*. Posteriormente, Klarer (1898–1953) e Mietzsch (1896–1958) sintetizaram, a partir da pesquisa a respeito da atividade antimicrobiana de corantes, a sulfamidocrisoidina, comercializada como Prontosil, o primeiro antimicrobiano da classe das sulfonamidas. Em 1929, foi publicado o artigo *On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their use in the Isolation of B. influenzae*, de autoria de Alexander Fleming (1881 - 1955), relatando o efeito antimicrobiano da penicilina. Após isso, a equipe composta por Ernst Boris Chain (1906 - 1979), Howard Walter Florey (1898 - 1968) e Norman Heatley (1911 - 2004) foi responsável pela extração, purificação e pelos testes clínicos da penicilina, o primeiro antimicrobiano da classe dos beta-lactâmicos. Com o advento da produção industrial de penicilina, dá-se início a era de ouro dos antimicrobianos. Em 1945, Fleming, Chain e Florey foram laureados com o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia.

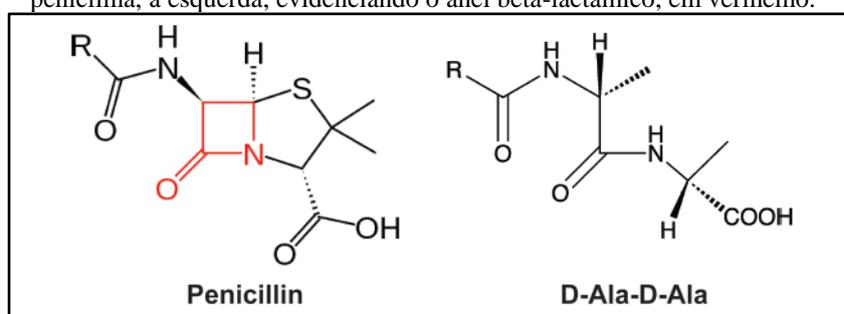
Em relação aos Aminoglicosídeos, por sua vez, o primeiro representante foi isolado em 1944, oriundo do trabalho de Selman Abraham Waksman (1888 - 1973) e colaboradores, a partir dos actinomicetos, bactérias filamentosas que se assemelham a fungos. A partir do *Streptomyces griseus*, foi isolada a Estreptomicina, que apresentou excelente eficácia contra o *Mycobacterium tuberculosis*, agente causador da tuberculose, tornando-se o primeiro agente específico para o tratamento da doença. Devido a este feito, Waskman foi agraciado com o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 1952. Posteriormente, em 1945, Giuseppe Brotzu (1895 - 1976), isolou um fungo chamado *Cephalosporium acremonium*, atualmente conhecido como *Acremonium strictum*, do esgoto da cidade de Cagliari, após observar que a incidência de febre tifoide era menor na cidade do que no resto da Itália e da Europa. Portanto, foi observado que esse fungo era capaz de inibir o crescimento da *Salmonella thypi* e, a partir disso, a Cefalosporina C foi identificada. Após isso, essa molécula foi utilizada como base para o desenvolvimento de várias cefalosporinas.

## 1.2 BETA-LACTÂMICOS: ESTRUTURA QUÍMICA, MECANISMO DE AÇÃO E USOS CLÍNICO

O grupo dos beta-lactâmicos inclui os antimicrobianos pertencentes às subclasses: penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, monobactam e os inibidores de beta-

lactamases. Essa denominação é uma referência a presença de um anel beta-lactâmicos na molécula desses fármacos, que confere a atividade bactericida, conforme ilustrado na **Figura 1**. A nomenclatura do núcleo fundamental das penicilinas e da cefalosporinas, as subclasses abordadas neste trabalho, são, respectivamente, o ácido-6-aminopenicilânico e o ácido-7-aminocefalosporânico. Essas estruturas são utilizadas para a fabricação de penicilinas e cefalosporinas sintéticas. A atividade dessas moléculas está relacionada a interferência no processo de síntese do peptídeoglicano, composto presente na parede bacteriana.

Figura 1. Estrutura química da D-Ala-D-Ala e sua similaridade em relação às estruturas químicas da penicilina, à esquerda, evidenciando o anel beta-lactâmico, em vermelho.



Fonte: Zeng e Lin (2013).

O peptídeoglicano é composto por duas moléculas, que são intercaladas, a N-acetil-glucosamina (*NAG*, *N-Acetyl-D-glucosamine*) e Ácido N-acetil-murâmico (*NAM*, *N-Acetylmuramic Acid*) associado a uma cadeia lateral com quatro aminoácidos – L-Alanina (*L-Alanine*), ácido-D-glutâmico (*D-glutamate*), ácido diaminopeptídico (*DPA*, *Diaminopimelic acid*) e D-Alanina (*D-Alanine*). O NAG e o NAM são unidos por ligações covalentes, formando uma unidade ou monômero, que são ligados entre si, formando uma longa cadeia de peptídeoglicano. Essa cadeia, posteriormente, é ligada a outras cadeias por ligações cruzadas, a partir da cadeia lateral de aminoácidos presentes na molécula de NAM, por meio da ação de enzimas transpeptidases conhecidas como Proteínas Ligadoras de Penicilina (*PBP*, *penicilin-binding protein*). A atividade bactericida dos beta-lactâmicos está relacionada ao processo supracitado. Devido a semelhança molecular entre os antimicrobianos e a extremidade D-Ala-D-Ala, ocorre a ligação irreversível dos beta-lactâmicos às enzimas PBP, impedindo que ocorra a formação das ligações cruzadas, o que fragiliza a parede celular bacteriana e resulta no rompimento desta (ZENG; LIN, 2013).

As penicilinas podem ser classificadas em diversos grupos, de acordo com suas características. Os principais grupos são: penicilinas naturais, penicilinas resistentes às

penicilinas e penicilinas de amplo espectro de ação. As penicilinas naturais são aquelas obtidas a partir de fungos do gênero *Penicillium* sp. e o seu principal representante é a Penicilina G, a única que apresenta uso terapêutico. Esta é apresentada em quatro formas principais, a saber: cristalina sódica e potássica, e as penicilinas de longa duração, procaína e benzatina. As principais diferenças entre essas apresentações são as particularidades farmacocinéticas. As penicilinas naturais possuem um espectro de ação curto, apresentando efeito terapêutico contra bactérias gram-positivas e são inativas contra a maior parte das bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* sp. e *Staphylococcus* sp. produtores de penicilases. As penicilinas de amplo espectro são semissintéticas e todas são sensíveis à penicilinas. São divididas em aminopenicilinas e amidopenicilinas, representadas principalmente pela amoxicilina e ampicilina. A ampicilina possui espectro de ação contra cocos gram-positivos e negativos e bastonetes gram-negativos, apresentando estabilidade em pH ácido, portanto, pode ser administrada VO e vias parenterais. A amoxicilina é semelhante a ampicilina, entretanto, sua absorção no sistema digestório é maior. As cefalosporinas foram inicialmente isoladas a partir do fungo *Cephalosporium acremonium*, atualmente denominado de *Acremonium strictu*, e possuem como estrutura base o ácido-7-aminocefaloporânico. Essa molécula é importante para o desenvolvimento de cefalosporinas semissintéticas. As cefalosporinas são classificadas em gerações, de acordo com suas características e ordem cronológica de desenvolvimento. Os inibidores de beta-lactamases são substâncias que têm por principal finalidade inibir a ação ou impedir a produção das beta-lactamases, enzimas que hidrolisam o anel beta-lactâmico dos fármacos e causam um efeito deletério nos mesmos. Esses fármacos são utilizados em associação com os antimicrobianos. Os inibidores de beta-lactamases de interesse médico veterinário são: ácido clavulânico, ou clavulanato, sulbactam e tazobactam (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2011).

### 1.3 AMINOGLICOSÍDEOS: ESTRUTURA QUÍMICA, MECANISMO DE AÇÃO E USOS CLÍNICO

Segundo Jana S. e Deb J.K. (2006) e Ribeiro A.M.F (2014), os aminoglicosídeos são moléculas compostas por núcleo contendo um anel aminociclitol que pode estar associado a um ou mais amino-açúcares, por meio de ligações glicosídicas. Em geral, considerando as moléculas utilizadas na rotina clínica, a 2-deoxyestreptamina é o aminociclitol mais comum. porém alguns antimicrobianos, como a estreptomicina,

apresentam a estreptidina como anel aminociclitol. Somado a isso, moléculas como espectinomomicina, são compostas apenas por aminociclitóis.

De modo simplificado, o mecanismo de ação dos aminoglicosídeos consiste, principalmente, na ligação da molécula à porção 16S do RNAr da Subunidade 30S do ribossomo, o que não impede o alongamento da cadeia de peptídeos, mas atrapalha o processo, provocando erros de leitura e produção de proteínas anômalas ou aberrantes. Essas proteínas aberrantes, podem se ligar a membrana plasmática da célula bacteriana, o que resulta em alterações na permeabilidade desta, aumentando, assim, o influxo de moléculas de aminoglicosídeos e o efluxo de moléculas, íons e componentes essenciais para a célula bacteriana (JANA; DEB, 2006; RIBEIRO, 2014)

Os aminoglicosídeos são utilizados para o tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas aeróbias e estafilococos. A amicacina e a tobramicina possuem ótima eficácia contra *Pseudomonas aeruginosa*. A administração desses antimicrobianos está relacionada a uma elevada dosagem e longos períodos de intervalo entre doses, resultando em uma elevada concentração nos sítios de infecção, resultando em um efeito bactericida máximo. A absorção dos aminoglicosídeos no trato gastrointestinal é muito reduzida e recomenda-se a administração por via parenteral para o tratamento de infecções sistêmicas.

#### 1.4 RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

A resistência aos antimicrobianos (*AMR, antimicrobial resistance*) é uma problemática emergente e que permeia os debates e diretrizes de saúde pública no mundo. A AMR ocorre quando microrganismos, como bactérias, vírus e fungos, sofrem alterações ao longo do tempo e as medicações que antes exerciam efeito terapêutico sobre eles tornam-se ineficazes (WHO, 2021). A origem da resistência está ligada a mutações aleatórias e espontâneas que acontecem durante o processo de replicação das bactérias, chamadas mutações *de novo*. Essas mutações alteram genes, que podem mudar características morfológicas e metabólicas da célula bacteriana e de seus componentes, resultando na perda de eficácia do antimicrobiano.

Esse fenômeno pode ser dividido em resistência natural, que por sua vez pode ser intrínseca ou induzida, e resistência adquirida. A resistência natural intrínseca engloba as bactérias que são naturalmente resistentes à ação dos antimicrobianos, por questões morfológicas ou metabólicas, antes mesmo da exposição ao princípio ativo, de modo que essa resistência sempre é expressa na espécie. A título de exemplo, cita-se a permeabilidade

seletiva gerada pela membrana externa presente nas bactérias gram-negativas, que impede a difusão de moléculas grandes e carregadas (EBBENSGAARD et al., 2018). A resistência induzida (ou adaptativa) ocorre quando um gene ocorre naturalmente em uma espécie, porém só é expresso, de modo que gere resistência, após o contato com o antimicrobiano (C REYGAERT, 2018). Essa estratégia permite que a bactéria responda de maneiras diferentes, de acordo com os estímulos do ambiente (ARZANLOU; CHAI; VENTER, 2017). Somado a isso, a resistência adquirida ocorre quando uma bactéria susceptível adquire um material genético, por meio da transformação, transdução ou conjugação, que possui um gene de resistência e se torna resistente à ação de um antimicrobiano. A transferência dos materiais genéticos permite a introdução da resistência aos antimicrobianos em uma população bacteriana susceptível.

A resistência aos antimicrobianos pode ser dividida em quatro mecanismos: (1) Limitação da captação da molécula; (2) Efluxo da molécula, (3) inativação da molécula; e (4) modificação no sítio de ação da molécula. As bactérias gram-negativas podem utilizar os quatro mecanismos de resistência. A resistência aos aminoglicosídeos pode ocorrer de três modos, por meio da modificação do sítio de ligação da molécula no componente 16S da subunidade 30S do ribossomo bacteriano, redução da penetração do fármaco na célula bacteriana e inativação enzimática. No primeiro caso, essas mutações são codificadas por genes presentes no cromossomo bacteriano e é o mecanismo menos frequente. No segundo caso, o efeito ocorre devido a alteração do metabolismo energético da membrana citoplasmática da célula e diminuição da diferença de potencial da membrana, reduzindo, assim, a penetração das moléculas. No terceiro caso, a modificação das moléculas, que é o mecanismo mais comum, é realizada por enzimas presentes no espaço periplasmático, que causa a metilação, fosforilação e adenilação, modificando os grupos hidroxila e amino, o que interfere no processo de ligação à subunidade 30S do ribossomo. No caso dos beta-lactâmicos, o principal mecanismo envolvido na resistência é a inativação enzimática por hidrólise, que é realizada pelas enzimas conhecidas genericamente como beta-lactamases. Essas enzimas são divididas em quatro grandes grupos (de A a D), de acordo com a similaridade da estrutura molecular, ou de acordo com suas características funcionais, baseadas no seu substrato: Serina-Beta-Lactamases (SBLs), que são correspondentes aos grupos A, C e D, e Metallo-Beta-Lactamases (MBLs), correspondentes ao grupo B (KING et al., 2017). As beta-lactamases da classe A (SBLs) são codificadas por genes presentes em elementos genéticos móveis, como os plasmídeos, e estão entre as mais importantes do ponto de vista clínico, pois estas evoluíram para hidrolisar não só as penicilinas, como as

cefalosporinas de amplo espectro e os monobactams. As beta-lactamase pertencentes à classe B (MBLs) são transmitidas principalmente por cassetes de genes, o que facilita a sua dispersão em populações bacterianas e são capazes de hidrolisar todos os beta-lactâmicos, com exceção dos monobactams e compõe a maior diversidade de carbapenemases. As beta-lactamases de classe C (SBLs) inicialmente eram capazes de hidrolisar apenas as cefalosporinas, porém, atualmente, apresentam alta capacidade catalítica para as penicilinas e são capazes de hidrolisar carbapenêmicos. As beta-lactamases de classe D (SBLs) inicialmente degradavam penicilinas, como a oxacilina, entretanto, adquiriram a capacidade de hidrolisar algumas cefalosporinas e os carbapenêmicos (C REYGAERT, 2018).

### 1.5 IMPORTÂNCIA DA *ESCHERICHIA COLI*

A *Escherichia coli*, integrante e modelo da família Enterobacteriaceae, é uma bactéria autóctone da microbiota intestinal de humanos e animais. Apesar da grande maioria das cepas de *E. coli* apresentarem baixa patogenicidade, outras apresentam grande importância pelo potencial de causar doenças severas, desde infecções nosocomiais a infecções de origem alimentar. “Colibacilose” é uma denominação genérica utilizada para referenciar infecções causadas por *E. coli*, que podem ser intestinais ou extra intestinais. Apesar da maioria dos clones de *E. coli* serem comensais, alguns adquiriram fatores de virulência que aumentaram a sua patogenicidade e permitem que causem um amplo espectro de doenças, além da adaptação à novos nichos, e são comumente chamados de “patovares” ou “patotipos”.

Segundo Kaper, Nataro e Mobley (2004), os patovares de *E. coli* são classificados como: *E. coli*. Enteropatogênica (EPEC), *E. coli* Enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* Enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* Enteroagregativa (EAEC), *E. coli* Enteroenvasiva (EIEC) e *E. coli* Difusamente Aderente (DAEC). A infecção por essas bactérias pode desencadear o surgimento de sinais clínicos, que são agrupados em três síndromes, a saber: diarreica/entérica, infecções de trato urinário e sepsé/meningite. A *E. coli* é uma bactéria intrinsecamente suscetível à maioria dos antimicrobianos clinicamente relevantes, entretanto, essas bactérias apresentam uma grande capacidade de acumular genes de resistência que, em sua maioria, são transferidos de maneira horizontal. A importância dela está relacionada ao papel desempenhado no pool genético das enterobactérias e outras bactérias gram-negativas de importância médica, principalmente, por atuar como doadora e receptora desses genes, facilitando a disseminação destes em populações susceptíveis. Os

genes mais problemáticos são os relacionados à aquisição de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs, *extended spectrum beta-lactamases*), que podem conferir resistência às cefalosporinas de amplo espectro, carbapenemases e metiltransferases de RNAr 16S, que podem conferir pan-resistência à aminoglicosídeos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 PLANO DE TRABALHO

Foram utilizados dados relativos às amostras de recebidas e processadas no Laboratório de Microbiologia Médica Veterinária da FAV/UnB, que foram positivas para a presença de *Escherichia coli*, correspondentes ao período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018. A partir dos resultados dos testes de susceptibilidade, foi traçado o perfil de resistência das bactérias aos antimicrobianos das classes beta-lactâmicos e aminoglicosídeos.

### 2.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Segundo o Procedimento Operacional Padrão, as amostras foram recebidas e semeadas em Ágar sangue (MERCK®) contendo 7% de sangue de carneiro, e incubadas a 37°C por 24 horas em aerobiose e em anaerobiose. Em caso de ausência de crescimento, as amostras permaneceram em incubação por mais 24 horas. Após o crescimento de colônias, as características de crescimento das mesmas, como produção de hemólise, pigmento e características morfo-tintoriais, como a metodologia, Gram foram relacionadas para o processo de identificação dos micro-organismos, bem como foi procedida a identificação bioquímica das amostras de acordo com Quinn et al. (2011). O teste de susceptibilidade, foi realizado segundo o Método de Kirby-Bauer (Disco-difusão), utilizando discos impregnados com antimicrobianos, que foram escolhidos de acordo com a origem do material, espécie acometida e critério clínico do médico veterinário responsável e da equipe técnica do laboratório. O laboratório de Microbiologia Médica Veterinária dispunha de todo o aparato para o cultivo, isolamento e identificação bioquímica, como meios de cultura enriquecidos, meios de diagnóstico presuntivo e meios de diagnóstico bioquímico, estufas, autoclaves, bicos de Bunsen, vidrarias, potenciômetros, bem como reagentes e outros utensílios para o alcance dos objetivos enunciados.

## 2.3 ANÁLISE DE DADOS

Os dados coletados a partir dos registros oficiais do laboratório de Microbiologia Médica Veterinária e tabulados e analisados utilizando o *software* Microsoft Office Excel 2016<sup>®</sup>. Os resultados encontram-se nos **gráficos 1, 2 e 3**.

## 2.4 REFERÊNCIAS

O gerenciamento de arquivos e referências bibliográficas foi feito utilizando o *software* Zotero<sup>®</sup>.

## 3 RESULTADOS

Dentro do período de análise, foram isoladas 58 *Escherichia coli* a partir de 51 amostras recebidas no Laboratório de Microbiologia Médica-Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília (FAV/UnB).

### 3.1 RESULTADOS GERAIS

Em relação ao tipo de amostra recebida, observa-se que as mais frequentes são: Urina - 41,18% (21/51), Fragmento de órgãos oriundos de necropsia – 9,80% (5/51), Cerúmen – 7,84% (4/51), Swab de superfície ocular - 3,92% (2/51) e Lavado traqueal - 3,92% (2/51). Os animais acometidos foram: Caninos – 39,22% (20/51), Animais Silvestres – 35,29% (18/51), Felinos – 19,61% (10/51), Bovinos – 3,92% (2/51) e Equinos 1,96% (1/51).

### 3.2 PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS BETA-LACTÂMICOS E AMINOGLICOSÍDEOS

No tocante a multirresistência, foi observado que 22,41% (13/58) das bactérias apresentaram a resistência a apenas um antimicrobiano, 20,69% (12/58) apresentaram a resistência a dois antimicrobianos, 17,24% (10/58) bactérias apresentaram a resistência a três antimicrobianos e apenas 1,72% (1/58) bactéria apresentou a resistência a quatro antimicrobianos. Além disso, evidencia-se que nenhuma bactéria apresentou resistência a mais de quatro antimicrobianos, 12,06% (7/58) das bactérias foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados e o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos não foi realizado em 25,86% (15/58) dos casos.

Em relação à resistência aos antimicrobianos pertencentes aos beta-lactâmicos, os resultados foram agrupados em dois grupos, as penicilinas (**gráfico 1**) e as cefalosporinas (**gráfico 2**). Referente ao primeiro grupo, podemos observar: Penicilina G – 100% (5/5),

Amoxicilina – 72,2% (13/18), Amoxicilina + Clavulanato – 16,7% (3/18) e Ampicilina + Sulbactam – 17,61% (4/17). As cefalosporinas, por sua vez, apresentaram os seguintes resultados: Cefalexina (CFE) -38,46% (5/13), Cefalotina (CFL) – 70% (14/20), Ceftriaxona (CRO) – 16,67% (2/12), Cefoxitina (FOX) – 40% (2/5), Ceftadizima (CAZ) – 33,33% (1/3), Ceftiofur (CTF) – 0% (0/2), Cefepime (CPM) – 0% (0/1) e Cefetaxima (CTX) – 0% (0/1).

No tocante aos aminoglicosídeos (**gráfico 3**), nota-se que: Amicacina (AMI) – 0% (0/11), Estreptomicina (EST) - 50% (2/4), Gentamicina (GEN) – 29,16% (7/24), Neomicina (NEO) – 40% (2/5) e Tobramicina (TOB) – 100% (1/1).

Gráfico 1. Frequência absoluta e relativa de Escherichia coli sensíveis, intermediárias ou resistentes à ação dos antimicrobianos Beta-lactâmicos da subclasse dos Penicilinas. Abreviações: PEN - Penicilina G; AMO - Amoxicilina; AMC - Amoxicilina associada ao Clavulanato; ASB - Ampicilina associada ao Sulbactam;

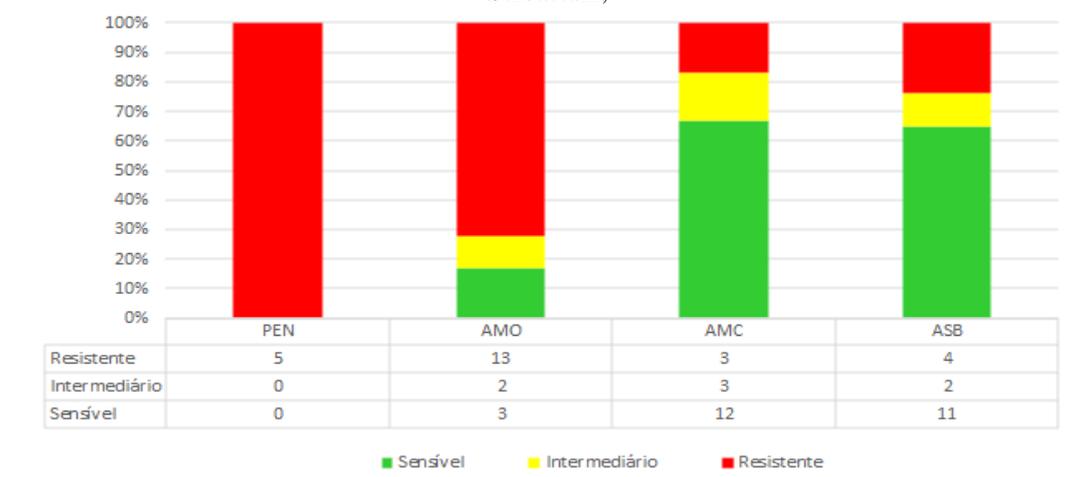


Gráfico 2. Frequência absoluta e relativa de Escherichia coli sensíveis, intermediárias ou resistentes à ação dos antimicrobianos Beta-lactâmicos da subclasse das Cefalosporinas. Abreviações: CFE - Cefalexina; CFL - Cefalotina; CFZ - Cefazolina; FOX: Cefoxitina; CTX - Cefotaxima; CAZ - Ceftadizima; CTF- Ceftiofur; CRO - Ceftriaxona; CPM - Cefepime

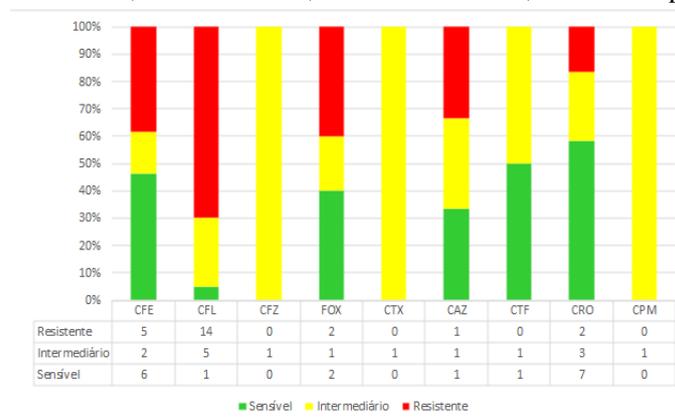
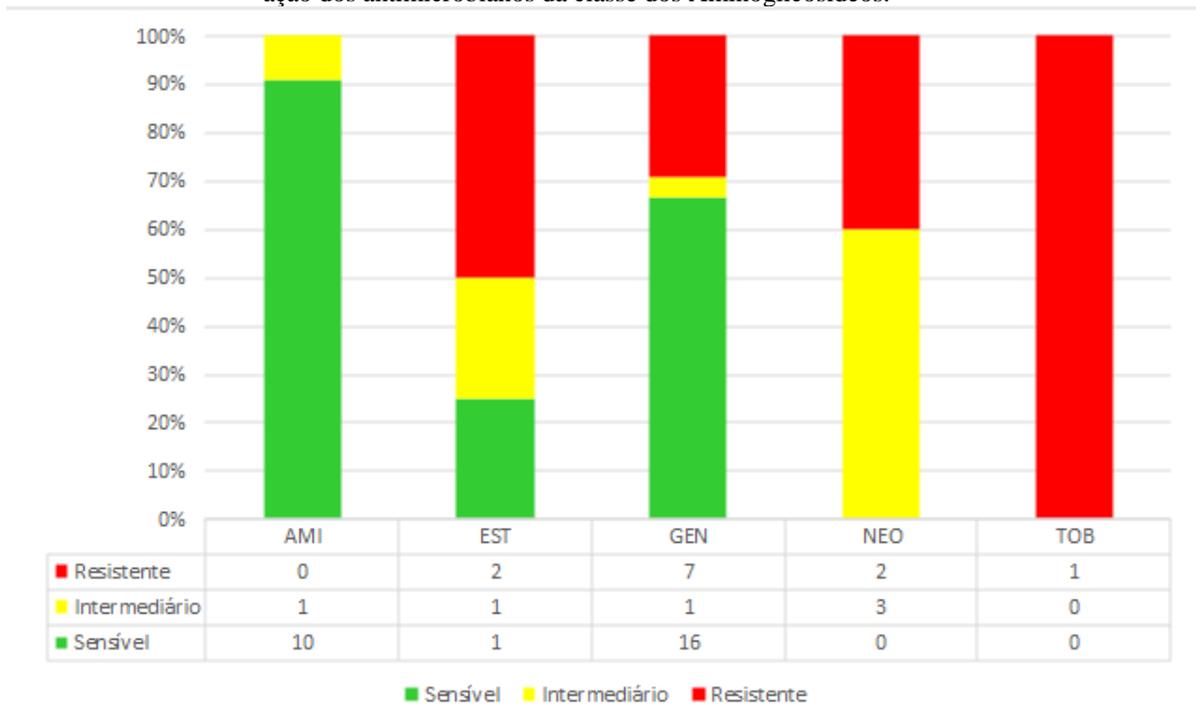


Gráfico 3. Frequência absoluta e relativa de *Escherichia coli* sensíveis, intermediárias ou resistentes à ação dos antimicrobianos da classe dos Aminoglicosídeos.



Abreviações: AMI - Amicacina; EST - Estreptomicina; GEN - Gentamicina; NEO - Neomicina; TOB – Tobramicina.

#### 4 DISCUSSÃO

Nesse estudo, o objetivo principal foi determinar o perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas a partir de amostras coletadas e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Médica Veterinária da Universidade de Brasília.

A *Escherichia coli* é um dos agentes etiológicos mais isolados na rotina médica veterinária. Segundo Awosile et al. (2018), a *E. coli* foi a bactéria mais isolada a partir de diversos tipos de amostras de gatos (n=829, 49,41%) e a segunda bactéria mais isolada a partir de amostras de cães (n=3364, 23,66%). Segundo Amphaiphan et al. (2021), a *Escherichia coli* foi a segunda bactéria mais isolada a partir de amostras de cães e gatos com sinais clínicos de infecção em trato urinário (ITU), correspondendo a 16,7% (n=33) do total de isolados, resultado semelhante ao obtido por Qekwana et al. (2018), correspondente a 22% (n=175). Somado a isso, por ser uma bactéria comensal dos mamíferos e por ser comumente isolada em amostras clínicas, é um microrganismo importante para monitorar as tendências de resistência aos antimicrobianos.

A classe de antimicrobianos beta-lactâmicos são os mais utilizados na rotina médica, sobretudo, na medicina veterinária. Nesse estudo, foram testadas duas subclasses dos beta-lactâmicos, a saber: as penicilinas e as cefalosporinas. Os resultados relativos à

subclasse das penicilinas indicam um elevado percentual de resistência, a saber, Penicilina G (n= 5/5; 100%) e a Amoxicilina (n=13/18; 72,20%). É importante ressaltar o reduzido número de testes no caso da Penicilina G. No trabalho realizado por Qekwana et al. (2018), o percentual de resistência à Penicilina G (n= 163/164; 99,4%) e Amoxicilina (n= 115/164; 70,1%) foi semelhante ao obtido nesse estudo, assim como o obtido por Rzewuska et. al (2015) relativo à Amoxicilina (n= 510/726; 70,20%). Pomorhammad et al. (2019), em sua revisão sistemática e meta-análise, indica um elevado percentual de resistência à Amoxicilina em *E. coli* isoladas de animais, equivalente a 96% (n=24/25).

Entretanto, quando os antimicrobianos foram associados a inibidores de beta-lactamases, Amoxicilina + Ácido Clavulânico (n=3/18; 16,7%) e Ampicilina + Sulbactam (n= 4/17; 17,61%), os percentuais de resistência reduziram significativamente. Esses resultados são compatíveis aos obtidos no trabalho de Awosile et. al (2018), no qual o percentual de resistência à Amoxicilina + Ácido Clavulânico foi 12,1% (n  $\cong$  100/829) e 13,9% (n  $\cong$  468/3364) para *E. coli* isoladas de amostras de gatos e cães, respectivamente, e no trabalho realizado por Leite-Martins et al. (2014), no qual o percentual de resistência para amostras de cães foi 15% (n  $\cong$  46/307). Somado a isso, Gómez-Béltran et al. (2020), relatou que a resistência à Ampicilina + Sulbactam de 16,7% (n $\cong$  27/163). Pomorhammad et al. (2019), por sua vez, obteve um percentual de 1,25% (n= 8/637) para *E. coli* isoladas de animais, entretanto, o percentual relativo as amostras de humanos e ambiente/alimento foram similares. Esse resultado é similar aos encontrados por Chang et al. (2015), 2,6% (n= 3/114), e Amadi et al. (2019), 0,5% (2/402). Entretanto, nos estudos realizados por Saputra et al. (2017) e Rzewuska et al. (2015), a frequência de *E. coli* resistentes foi mais elevada, respectivamente, 45,5% (n= 234/514) e aproximadamente 52,1% (n $\cong$  377/724).

Em relação aos antimicrobianos pertencentes a subclasses das penicilinas que não foram testados neste trabalho, é importante ressaltar que diversos relatos apontam elevados índices de resistência. A título de exemplo, pode-se citar os resultados obtidos por Amphaiphan et. al (2021), Ludwig et. al (2016) e Lei et al. (2010) relativos à resistência à Ampicilina, respectivamente, 100% (n= 33/33), 100% (n= 108/108) e 100% (n= 244/244). Pomorhammad et al. (2019), por sua vez, relata um percentual de resistência inferior, entretanto ainda preocupante, de 20,23% (n= 443/2190), assim como: Cummings et al. (2015) - 34,3% (n $\cong$  1194/3480); e Chang et al. (2015) - 50% (n= 57/114).

Em relação à subclasse das cefalosporinas, pertencente a classe de beta-lactâmicos, os percentuais de resistência obtidos foram: Cefalotina -70% (n= 14/20), Cefalexina -

38,46% (n= 5/13;), Ceftriaxona – 16,67% (n= 2/12), Cefoxitina – 40% (n= 2/5), Cefadizima – 33,33% (n= 1/3), Ceftiofur – 0% (n= 0/2), Cefepime – 0% (n= 0/1) e Cefetaxima – 0% (n= 0/1). Ressalta-se o número reduzido de testes para os antimicrobianos desta subclasse, com exceção da Cefalexina, Cefalotina e Ceftriaxona. Nos trabalhos realizados por Qekwana et al. (2018), a Cefalotina apresentou um percentual de resistência superior, correspondente a 83,7% (n= 139/166). Esses resultados são consideravelmente superiores aos resultados obtidos por Cummings et al. (2015) - 27,9% (n≅ 370/1325), Pormohammed et al. (2019) - 20,7% (n= 401/1937) e Amadi et al. (2019) - 13,18% (n= 53/402). A Cefalexina, por sua vez, apresentou resultados próximos aos obtidos por Awosile et al. (2018), equivalente a 42,9% (n≅ 324/829). Percentuais superiores e inferiores foram obtidos, respectivamente, por Gómez-Béltran et al. (2020), 27,3% (n≅ 45/163), e Amphaiphan et al. 69,2% (n≅ 23/33). Ademais, foram encontrados percentuais consideravelmente maiores do que os citados anteriormente, como o de Saputra et al. (2017), equivalente a 94,6% (n= 486/514). Por fim, em relação aos aminoglicosídeos, os resultados obtidos foram: Amicacina 0% (n= 0/11), Estreptomicina- 50% (n = 2/4), Gentamicina – 29,16% (n= 7/24), Neomicina – 40% (n= 2/5) e Tobramicina – 100% (n= 1/1).

Em relação à Amicacina, o resultado obtido foi semelhante ao descrito por Cummings et al. (2015), enquanto o resultado relativo à Gentamicina foi superior, correspondendo, respectivamente, a 0,4% (n≅ 8/1711) e 15,5% (n≅ 266/1713). Do mesmo modo, Pormohammed et al. (2019), relatou 1,13% (n= 8/707) de resistência à Amicacina e 15,73% (n= 149/947) de resistência à Gentamicina. Gómez-Beltrán et al. (2020), identificou 0% (n= 0/163) de resistência à Amicacina e 30% (n= 4/13) para a Gentamicina em amostras isoladas de gatos, em concordância com os resultados anteriores, entretanto, a resistência a Gentamicina foi ligeiramente inferior, correspondendo a 10,2% (n ≅ 17/163) para amostras de cães. Os resultados de resistência à gentamicina obtidos por Awosile et al. (2018) foram inferiores aos encontrados neste estudo, a saber: 3,9% (n ≅ 32/829) para amostras de gatos e 5,5% (n≅ 105/3364) para amostras de cães. Ademais, os resultados relativos à Amicacina foram superiores aos supracitados, a saber: 6,1% (n≅ 7/829) para gatos e 6,2% (n≅ 209/3364) para cães.

É importante ressaltar que esse estudo tem algumas limitações. Por se tratar de um estudo retrospectivo, os resultados utilizados são relativos às amostras coletadas processadas de acordo com as circunstâncias clínicas de cada animal e a partir do critério

clínico do médico veterinário, de modo que não havia protocolo padrão para o painel antimicrobiano padrão para teste de suscetibilidade. A seleção destes foi baseada exclusivamente na preferência e conduta clínica dos profissionais. Devido a isso, o número de testes de susceptibilidade para os antimicrobianos não foi uniforme, de modo que, em alguns casos, o número reduzido pode comprometer a análise e tornar os resultados tendenciosos.

## 5 CONCLUSÕES

Desse modo, é notável a evolução da resistência aos antimicrobianos no decorrer dos anos e sua importância e impacto na rotina médica-veterinária. Esse fenômeno tem potencial para colocar em xeque os tratamentos com drogas convencionais e amplamente utilizadas, além de prejudicar os tratamentos com drogas de última escolha, para pacientes em estado grave.

É importante realizar estudos mais amplos, com um maior número de anos analisados e de bactérias testadas, a fim de entender de maneira mais fidedigna a dimensão da resistência aos antimicrobianos e a sua evolução. Somado a isso, é importante testar um leque amplo de fármacos, com intuito de avaliar o percentual de resistência à drogas de última geração. Ademais, em estudos futuros, sob a luz da Saúde Única, é importante avaliar o real impacto do intercâmbio de carga bacteriana entre o ambiente, os animais e os seres humanos, com o intuito de compreender mais acerca da disseminação de microrganismos resistentes e, por consequência, os genes de resistência entre diferentes populações bacterianas. Por fim, faz-se necessário a identificação dos genes de resistência envolvidos no processo da resistência aos antimicrobianos em determinada região, de modo que seja possível entender e acompanhar a disseminação dos mesmos dentro de uma população.

## CONFLITO DE INTERESSE

Os autores não apresentam nenhum conflito de interesses.

## REFERÊNCIAS

AMADI, V. A. et al. Antimicrobial resistance patterns of commensal *Escherichia coli* isolated from feces of non-diarrheic dogs in Grenada, West Indies. **Veterinary World**, v. 12, n. 12, p. 2070–2075, dez. 2019.

AMPHAIPHAN, C.; et al. Antimicrobial drug resistance profile of isolated bacteria in dogs and cats with urologic problems at Chiang Mai University Veterinary Teaching Hospital, Thailand (2012–2016). **Zoonoses and Public Health**, v. 68, n. 5, p. 452–463, ago. 2021.

Antimicrobial Resistance. **World Health Organization (WHO)**, [s.d.]. Disponível em: <<https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>>. Acesso em: 12 de Outubro de 2021;

ARZANLOU, M.; CHAI, W. C.; VENTER, H. Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. **Essays in Biochemistry**, v. 61, n. 1, p. 49–59, 3 mar. 2017.

AWOSILE, B. B.; MCCLURE, J. T.; SAAB, M. E.; HEIDER, L. C. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from cats and dogs from the Atlantic Provinces, Canada from 1994–2013. **The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne**, v. 59, n. 8, p. 885–893, ago. 2018.

CHANG, S.K. et al. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from canine urinary tract infections. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 77, n. 1, p. 59–65, 2015.

EBBENSGAARD, A. et al. The Role of Outer Membrane Proteins and Lipopolysaccharides for the Sensitivity of *Escherichia coli* to Antimicrobial Peptides. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2153, 7 set. 2018.

FLEMING, A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. **The British Journal of Experimental Pathology**, v. 10(3); p., 226–236; Jun 1929.

GÓMEZ-BELTRÁN, D. A. et al. Prevalence of Antimicrobial Resistance in Bacterial Isolates from Dogs and Cats in a Veterinary Diagnostic Laboratory in Colombia from 2016–2019. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 4, p. 173, 10 nov. 2020.

JANA, S.; DEB, J. K. Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 70, n. 2, p. 140–150, mar. 2006.

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.

KING, D. T.; SOBHANIFAR, S.; STRYNADKA, N. C. J. The Mechanisms of Resistance to  $\beta$ -Lactam Antibiotics. In: BERGHUIS, A. et al. (Eds.). **Handbook of Antimicrobial Resistance**. New York, NY: Springer New York, 2017. p. 177–201.

- LEI, T. et al. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from food animals, animal food products and companion animals in China. **Veterinary Microbiology**, v. 146, n. 1–2, p. 85–89, nov. 2010.
- LEITE-MARTINS, L. R. et al. Prevalence of antimicrobial resistance in enteric *Escherichia coli* from domestic pets and assessment of associated risk markers using a generalized linear mixed model. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 117, n. 1, p. 28–39, nov. 2014.
- LUDWIG, C. et al. Antimicrobial susceptibility monitoring of dermatological bacterial pathogens isolated from diseased dogs and cats across Europe (ComPath results). **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, n. 5, p. 1254–1267, nov. 2016.
- PORMOHAMMAD, A.; et al. Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis. **Infection and Drug Resistance**, v. 12, p. 1181–1197, 2019.
- 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, dez. 2018.
- QUINN, P. J.; et al. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Second Edition. Oxford: Wiley-Blackwell, 2011.
- REYGAERT, C. W.; DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES, OAKLAND UNIVERSITY WILLIAM BEAUMONT SCHOOL OF MEDICINE, ROCHESTER, MI, USA. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482–501, 2018.
- RZEWUSKA, M. et al. Multidrug Resistance in *Escherichia coli* Strains Isolated from Infections in Dogs and Cats in Poland (2007–2013). **The Scientific World Journal**, v. 2015, p. 1–8, 2015.
- RIBEIRO, A. M. F. **Farmacologia dos antibióticos aminoglicosídeos**. Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas—[s.l.] Universidade Fernando Pessoa, 2014.
- 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.
- SPINOSA, Helenice de Souza; GÓRNIK, Silvana Lima; BERNARDI, Maria Martha. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 824 p.
- ZENG, X.; LIN, J. Beta-lactamase induction and cell wall metabolism in Gram-negative bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, 2013