

**INVESTIGAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE
CARBAPENEMASES EM ANIMAIS ATENDIDOS NO CENTRO DE
MEDICINA VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN**

Andrey Junio Moreira Fernandes

Rio de janeiro, 2024

**INVESTIGAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE
CARBAPENEMASES EM ANIMAIS ATENDIDOS NO CENTRO DE MEDICINA
VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN**

Trabalho de Conclusão da Residência
apresentado ao Programa de Residência
Uniprofissional em Vigilância Sanitária, no
Instituto Municipal de Vigilância Sanitária,
Vigilância de Zoonoses e de Inspeção
Agropecuária, da Secretaria Municipal de
Saúde do Rio de Janeiro, como requisito
parcial para a obtenção do título de
Especialista em Vigilância Sanitária.

Orientador: Dra. Cíntia Silva dos Santos

Rio de Janeiro, 2024

Andrey Junio Moreira Fernandes

**INVESTIGAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE
CARBAPENEMASES EM ANIMAIS ATENDIDOS NO CENTRO DE MEDICINA
VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN**

Trabalho de Conclusão da Residência apresentado ao Programa de Residência Uniprofissional em Vigilância Sanitária, no Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária, da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Vigilância Sanitária.

Orientador: Dra. Cíntia Silva dos Santos

Aprovado em: __/__/__

Banca Examinadora

Dra. Cíntia Silva dos Santos
Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e Inspeção Agropecuária
(IVISA-Rio)

Dra. Liliane Simpson Lourêdo
Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e Inspeção Agropecuária
(IVISA-Rio)

Ms. Pablo Waldeck Gonçalves de Souza
Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (SMS-RJ)

Rio de Janeiro, 2024

RESUMO

INVESTIGAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE CARBAPENEMASES EM ANIMAIS ATENDIDOS NO CENTRO DE MEDICINA VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN

As enterobactérias produtoras de carbapenemases protagonizam um desafio significativo na resistência antimicrobiana, afetando tanto humanos quanto animais. Este estudo avaliou a prevalência dessas bactérias em cães e gatos atendidos no Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman, utilizando metodologia adaptada de coleta e análise de amostras fecais. Nenhuma enterobactéria produtora de carbapenemase foi encontrada entre as 74 amostras coletadas. Entretanto, os resultados revelaram a presença de fenótipos significativos de resistência antimicrobiana. Cerca de 31% (23/74) das amostras apresentaram resistência à ceftriaxona, destas, 60,8% (14/23) confirmaram-se enterobactérias produtoras de ESBLs. Além disso, o estudo encontrou uma proporção de 47,8% (11/23) de amostras com enterococos resistentes à vancomicina. A descoberta de resistência à ceftriaxona em um terço das amostras coletadas sugere uma preocupante disseminação de bactérias com resistência a antibióticos cruciais no tratamento de infecções. As ESBLs são enzimas que conferem resistência a uma ampla gama de antibióticos beta-lactâmicos, incluindo penicilinas e cefalosporinas, comprometendo opções terapêuticas vitais. Embora menos prevalente do que a resistência à ceftriaxona, a presença de enterococos resistentes à vancomicina é igualmente preocupante, dada a importância deste antibiótico no tratamento de infecções graves, pois limita severamente as opções de tratamento disponíveis. Assim, este trabalho concluiu que: (i) é possível o monitoramento, através de culturas de vigilância, de microrganismos multirresistentes em animais domésticos assistidos no CJV; (ii) os animais domésticos são potenciais portadores de microrganismos multirresistentes, por isso, pesquisas adicionais são necessárias para compreender melhor a epidemiologia e os mecanismos da disseminação nas populações animais, ambiente e seu impacto potencial na saúde humana; (iii) a resistência observada à ceftriaxona e vancomicina sublinha a necessidade de vigilância contínua e estratégias de gestão para combater a resistência antimicrobiana, o que inclui o uso prudente de antibióticos em medicina veterinária e humana, bem como a implementação de medidas de controle de infecção para prevenir a disseminação de bactérias resistentes; e (iv) a futura implementação de intervenções para combater a disseminação de microrganismos multirresistentes depende essencialmente de uma abordagem “One Health”.

Palavras-chave: “Enterobactérias”; “Carbapenemases”; “Resistência antimicrobiana”; “Saúde Única”.

ABSTRACT

CARBAPENEMASE-PRODUCING ENTEROBACTERIAE IN ANIMALS TREATED AT THE JORGE VAITSMAN VETERINARY MEDICINE CENTER

Carbapenemase-producing Enterobacteriae pose a significant challenge in antimicrobial resistance, affecting humans and animals alike. This study assessed their prevalence in dogs and cats treated at the Jorge Vaitsman Veterinary Medicine Center, using an adapted methodology for fecal sample collection and analysis. None of the 74 collected samples were found to contain carbapenemase-producing Enterobacteriae. However, the results revealed significant antimicrobial resistance phenotypes. Approximately 31% (23/74) of the samples showed resistance to ceftriaxone, of which 60.8% (14/23) were confirmed as ESBL-producing Enterobacteriae. Additionally, 47.8% (11/23) of samples were found to have vancomycin-resistant enterococci. The discovery of ceftriaxone resistance in a third of the samples suggests a worrying spread of bacteria resistant to critical antibiotics for treating infections. ESBLs are enzymes conferring resistance to a broad range of beta-lactam antibiotics, including penicillins and cephalosporins, thus compromising vital therapeutic options. Although less prevalent than ceftriaxone resistance, the presence of vancomycin-resistant enterococci is equally concerning, given the importance of this antibiotic in treating severe infections, as it severely limits available treatment options. Thus, this study concluded that: (i) monitoring of multiresistant microorganisms through surveillance cultures in domestic animals treated at CJV is feasible; (ii) domestic animals can be potential carriers of multiresistant microorganisms, hence additional research is needed to better understand the epidemiology and mechanisms of spread among animal populations, environment, and their potential impact on human health; (iii) the observed resistance to ceftriaxone and vancomycin underlines the need for continuous surveillance and management strategies to combat antimicrobial resistance, which includes prudent use of antibiotics in veterinary and human medicine, as well as implementation of infection control measures to prevent the spread of resistant bacteria; and (iv) the future implementation of interventions to combat the spread of multiresistant microorganisms essentially depends on a “One Health” approach.

Keywords: "Enterobacteria"; "Carbapenemases"; "Antimicrobial Resistance"; "One Health".

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Pág.
Figura 1: aprovação pelo comitê de ética em pesquisa da SMS-RJ.	18
Figura 2: aprovação pelo comitê de ética no uso de animais do IVISA-Rio.....	19
Figura 3: proporção de isolados resistentes à ceftriaxona.....	22
Figura 4: distribuição das espécies bacterianas resistentes à ceftriaxona isoladas.....	23
Figura 5: prevalência de enterobactérias produtoras de ESBL entre os microrganismos resistentes à ceftriaxona.....	25
Figura 6: prevalência de enterococos resistentes à vancomicina dentre as amostras.....	26
Figura 7: bactérias com fenótipos importantes de resistência.....	28

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1: número de amostras coletas de setembro a novembro de 2023.....	21
Tabela 2: presença de EPC nas amostras analisadas.....	21
Tabela 3: Prevalência de enterococos resistentes à vancomicina dentre as amostras.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMR	Resistência antimicrobiana
BHI	Caldo infusão de cérebro e coração
CJV	Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman
ESBL	Beta-lactamase de espectro estendido
EPC	Enterobactéria produtora de carbapenemase
FAO	Food and Agriculture Organization
IVISA/Rio	Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária do Rio de Janeiro
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAN-BR	Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Saúde Única
PAN-BR AGRO	Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no âmbito da Agropecuária
PBP	Proteínas ligadoras de Penicilina
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
VRE	Enterococo resistente à vancomicina

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	10
2. JUSTIFICATIVA	12
3. REFERENCIAL TEÓRICO	13
4. OBJETIVO GERAL	17
4.1 Objetivos secundários.....	17
5. MATERIAIS E MÉTODOS	16
5.1 Animais	18
5.2 Obtenção de amostras clínicas	19
5.3 Ensaio de Disco-difusão em Ágar.....	19
5.4 Diagnóstico microbiológico	20
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
7. CONCLUSÃO	29
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
APÊNDICE I	36

1. INTRODUÇÃO

As enterobactérias, um grupo taxonomicamente diversificado de bactérias Gram-negativas, englobam uma variedade de espécies que incluem tanto patógenos conhecidos por afetar humanos e animais quanto microrganismos que existem em ambientes naturais. Estas bactérias são frequentemente associadas a uma ampla gama de infecções, variando em gravidade e localização. Além de causarem infecções do trato urinário, pneumonia e infecções em feridas (ZHU et al., 2023), elas também são responsáveis por condições gastrointestinais como a diarreia, especialmente em ambientes de cuidados de saúde onde infecções hospitalares são uma preocupação significativa (POHLENZ et al., 2018).

Algumas espécies, como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter*, são notórias por sua capacidade de adquirir e transmitir resistência a múltiplos antibióticos, o que representa um desafio crescente no tratamento de infecções bacterianas (GONG et al., 2023). A virulência destas bactérias é potencializada pela presença de diversos fatores como toxinas, fatores de adesão e sistemas de secreção, que facilitam sua capacidade de causar doenças (NAKAZATO et al., 2023). Além disso, o ambiente hospitalar e o uso indevido de antibióticos contribuem para a seleção e disseminação de cepas resistentes, elevando a importância de monitorar e entender a ecologia e a resistência antimicrobiana destes microrganismos para a saúde pública global (CHOI et al., 2023; MA et al., 2023; ZHU et al., 2023).

Os carbapenêmicos, desde a descoberta da tienamicina isolada do *Streptomyces cattleya* em 1976, evoluíram significativamente em termos de estabilidade e eficácia (PAPP-WALLACE et al., 2011). Inicialmente limitados pela instabilidade em solução aquosa, avanços na química medicinal levaram ao desenvolvimento de diversos carbapenêmicos para uso clínico, como imipenem, meropenem, doripenem, ertapenem, biapenem e tebipenem (ARMSTRONG; FENN; HARDIE, 2021). Como todos os agentes antimicrobianos beta-lactâmicos, os carbapenêmicos atuam inibindo a síntese da parede celular bacteriana, ligando-se e inativando as proteínas ligadoras de penicilina (PBPs). Eles são estáveis à maioria das beta-lactamases, incluindo as beta-lactamases AmpC e beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) (BASSETTI et al., 2022).

A resistência aos carbapenêmicos surge quando as bactérias adquirem ou desenvolvem alterações estruturais em suas PBPs, adquirem enzimas (como as metalo-beta-lactamases) capazes de degradar rapidamente os carbapenêmicos ou quando surgem mudanças na permeabilidade da membrana devido à perda de porinas específicas da membrana

externa (ARMSTRONG; FENN; HARDIE, 2021; IOVLEVA; DOI, 2017; LEPE; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, 2022). Uma vez que o microrganismo adquire resistência aos carbapenêmicos, ele é, consequentemente, resistente a todos os agentes beta-lactâmicos (PULSS et al., 2018; ORTIZ-DÍEZ et al., 2023).

Embora grave e preocupante, a resistência aos carbapenêmicos tem sido relatada em várias espécies de enterobactérias, incluindo *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter* spp. (LIVERMORE et al., 2020), e sua disseminação é uma preocupação crescente em todo o mundo (NORDMANN; POIREL, 2019), pois notoriamente limita as opções de tratamento para infecções graves em humanos e animais (COLE; RANKIN, 2022a; SY et al., 2022). Em 2018, a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2018) publicou uma lista prioritária de bactérias resistentes a antimicrobianos, onde estão incluídas as Enterobacteriaceae produtoras de betalactamases de espectro estendido (ESBL) e produtoras de carbapenemases.

2. JUSTIFICATIVA

A detecção e monitoramento de enterobactérias produtoras de carbapenemases (EPCs) são cruciais para compreender a distribuição geográfica e a prevalência da resistência a antimicrobianos nesse grupo de bactérias (KARAMPATAKIS; TSENGOULI; BEHZADI, 2023). A identificação de EPCs não apenas mapeia a ocorrência desses microrganismos, mas também é essencial para implementar medidas de controle e prevenção, limitando sua propagação no ambiente hospitalar e na comunidade (RONG et al., 2023).

A presença de EPCs em ambientes nosocomiais e na comunidade constitui um desafio significativo para a saúde pública, já que a disseminação desses patógenos resistentes pode levar a surtos de infecções difíceis de tratar (HAN et al., 2020). O monitoramento contínuo e a vigilância epidemiológica são, portanto, fundamentais para entender as dinâmicas de transmissão dessas bactérias e seus genes associados (PAN et al., 2023). Estratégias como o rastreamento genético e a análise de padrões de resistência ajudam a identificar fontes de infecção e vias de transmissão, possibilitando a implementação de intervenções direcionadas para controlar a disseminação desses microrganismos (CHEN et al., 2014; RONG et al., 2023; ZHU et al., 2023).

Tendo em vista que (i) as enterobactérias representam uma crescente ameaça de resistência a múltiplos antibióticos; (ii) a disseminação dessas bactérias em ambientes hospitalares e na comunidade requer vigilância aprimorada; (iii) a emergência global de resistência aos carbapenêmicos e outros antimicrobianos destaca a importância do monitoramento de EPCs; (iv) a presença destas bactérias em animais aponta para a relevância de uma abordagem ‘*One Health*’ na pesquisa; (v) os desafios associados ao controle de infecções nosocomiais e comunitárias reforçam a necessidade de estratégias integradas de saúde pública; e (vi) a vigilância de microrganismos multirresistentes, como previsto pelos planos PAN-BR e PAN-BR AGRO, é fundamental para a prevenção e controle da resistência antimicrobiana em diferentes setores; justifica-se a importância deste estudo.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

Enterobactérias produtoras de carbapenemases constituem um importante e crescente desafio para a saúde global. Tanto a dispersão de clones resistentes quanto a transmissão de elementos genéticos móveis intra e interespecífica contribuem para o surgimento e aumento da incidência de bactérias resistentes. Os genes que conferem resistência aos carbapenêmicos geralmente estão localizados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos, o que facilita sua transferência horizontal entre diferentes espécies bacterianas (KIM et al., 2022; TOOMBS-RUANE et al., 2017; VAN DUIN & DOI, 2017). Esta transferência de genes de resistência amplia o espectro de bactérias resistentes, não apenas entre cepas clínicas, mas também em microrganismos ambientais, aumentando o risco de infecções intratáveis e dificultando o manejo clínico eficaz de doenças infecciosas (DAOUD; ROLAIN, 2022).

Dentre as quatro classes de betalactamases definidas pelo sistema de classificação de Amber, três classes estão envolvidas na resistência em enterobactérias: Classe A (carbapenemases de *Klebsiella pneumoniae*, KPC); Classe B (metalo-betalactamases, MBL e NDL) e Classe D (carbapenemases OXA-48-like) (VAN DUIN & PATERSON, 2016). Tais enzimas já foram descritas em diversos países em todos os continentes, ou seja, possuem distribuição global com particulares em relação a prevalência, incidência, distribuição, mecanismos específicos, espécies bacterianas envolvidas, em nível nacional, regional e institucional que denotam a grande diversidade do grupo e alertam para a necessidade de maior investigação para obtenção de informações cruciais para a prevenção da disseminação da resistência, bem como para a seleção das medidas terapêuticas mais adequadas em cada região (VAN DUIN & DOI, 2017).

As culturas de vigilância são uma estratégia importante na medicina humana para monitorar e prevenir a disseminação de infecções nosocomiais em hospitais e outras instituições de saúde (HUANG et al., 2014). Essas culturas são realizadas para detectar a presença de bactérias, vírus ou outros patógenos em pacientes hospitalizados, profissionais de saúde, equipamentos e superfícies, com o objetivo de identificar potenciais surtos de infecção hospitalar e tomar medidas para contê-los (BRASIL, 2013). Além de ajudar a identificar a disseminação de infecções hospitalares, as culturas de vigilância também ajudam a determinar a resistência antimicrobiana de bactérias e outros patógenos (CRUZ; SILVA; MAGALHÃES, 2019).

Embora seja uma rotina muito importante, que permite que instituições de saúde obtenham conhecimento sobre a peculiaridade dos microrganismos mais prevalentes em seus espaços, sua aplicação em medicina veterinária é praticamente inexistente, constatada pela escassez de trabalhos científicos que relatem sua implementação na rotina clínica médico-veterinária. Atualmente, existe padronização nacional para o procedimento técnico de coleta e processamento microbiológico de culturas de vigilância em hospitais para cuidados humanos (BRASIL, 2013).

Devido à atuação desses microrganismos, discute-se seu papel enquanto antropozoonose, haja vista que a transmissão pode ocorrer através do contato direto com animais infectados (ANDERSON; BOERLIN, 2020), consumo de alimentos de origem animal contaminados com essas bactérias ou contato com ambientes contaminados onde esses animais estiveram presentes e eliminaram esses microrganismos (ORTIZ-DÍEZ et al., 2023). A disseminação pode ser especialmente preocupante em ambientes onde os seres humanos e os animais vivem em estreita proximidade, incluindo serviços médico-veterinários além de representar um risco significativo para a saúde pública e tornar o tratamento de infecções, humanas ou animais, mais difícil e oneroso (COLE; RANKIN, 2022b; KAHN, 2017) (RINCÓN-REAL & SUÁREZ-ALFONSO, 2022).

A emergência global da resistência antimicrobiana (“*antimicrobial resistance*” - AMR) é destacada como uma pandemia silenciosa e alarmante, com implicações sérias para a saúde pública, sobretudo reforçadas pelo aumento na resistência aos carbapenêmicos. O aumento da colonização de enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos é um indicador preocupante da velocidade dessa emergência (REHMAN, 2023). A AMR ameaça reverter décadas de progresso médico, aumentando o risco de infecções antes controláveis tornarem-se letais. Projeções sugerem que até 2050, a AMR poderia causar mais mortes do que o câncer, estimando mais de 10 milhões de mortes (SINGHAL, 2022). Este cenário dramático destaca a necessidade urgente de uma resposta global coordenada para combater a AMR, enfatizando a importância de estratégias de vigilância aprimoradas e práticas de controle eficazes (WALIA et al., 2023). A disseminação de organismos multirresistentes, especialmente aqueles produtores de carbapenemase, exige uma abordagem multidisciplinar e multissetorial para prevenir a propagação da resistência antimicrobiana e proteger a saúde pública global (REHMAN, 2023; WALIA et al., 2023).

Não é possível explorar, no âmbito da resistência antimicrobiana, a discussão de medidas de prevenção e controle sem uma abordagem "*One Health*". Essa perspectiva certamente representa uma mudança paradigmática essencial na saúde global, reconhecendo que a saúde humana, animal e ambiental estão intrinsecamente conectadas, enfatizando a necessidade de uma resposta interdisciplinar e inter-setorial à crescente ameaça da resistência antimicrobiana (KAHN, 2017). A eficácia desta abordagem reside na sua capacidade de integrar políticas e práticas de saúde pública, medicina veterinária e ciências ambientais, abordando assim os desafios da AMR de maneira holística (CONCEIÇÃO; QUEIROGA; LARANJO, 2023).

A relevância desta abordagem é evidenciada pelo impacto significativo da AMR na saúde pública, economia e meio ambiente. A disseminação de patógenos resistentes entre humanos, animais e ecossistemas demonstra a necessidade urgente de uma colaboração transfronteiriça e transdisciplinar (ASLAM et al., 2021; HERNANDO-AMADO et al., 2019). O sucesso da estratégia "*One Health*" depende da sua implementação efetiva, que inclui a promoção do uso racional de antimicrobianos, desenvolvimento de novos medicamentos, e fortalecimento da vigilância e das capacidades de resposta a surtos de doenças em todos os setores (BRIGHT-PONTE et al., 2019; SINCLAIR, 2019).

Não obstante, o Brasil se insere nesse fórum mundial, assumindo o compromisso, através dos Ministérios da Saúde (Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Saúde Única - PAN-BR) e da Agricultura e Pecuária (Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no âmbito da Agropecuária - PAN-BR AGRO) (BRASIL, 2018).

O PAN-BR visa abordar o crescente problema da resistência antimicrobiana (AMR) de uma forma integrada, considerando os impactos e as interações entre a saúde humana, animal e ambiental. Este plano estratégico busca coordenar e implementar ações para monitorar, prevenir e controlar a AMR no Brasil, envolvendo diferentes setores e níveis de governo, em alinhamento com as diretrizes e objetivos globais de saúde pública (BRASIL, 2018). Por outro lado, o PAN-BR AGRO, coordenado pelo Ministério da Agricultura e Pecuária, foca especificamente no âmbito da agropecuária. Este plano foi desenvolvido em conjunto com diversas entidades no intuito de atender aos objetivos definidos pela aliança tripartite entre a Organização Mundial de Saúde (OMS), *Food and Agriculture Organization* (FAO) e Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) no Plano de Ação Global sobre Resistência aos

Antimicrobianos. O PAN-BR AGRO inclui um programa de vigilância e monitoramento da resistência aos antimicrobianos em produtos de origem animal e busca fornecer dados para a tomada de decisões, políticas públicas e alocação de recursos nas ações de prevenção e contenção da AMR na cadeia de produção de alimentos (BRASIL, 2018). Em ambos os planos citados, a vigilância da ocorrência de microrganismos multirresistentes compõe um elo indispensável para sua execução (BRASIL, 2018).

4. OBJETIVO GERAL

Investigar, através de adaptação de metodologia pré-existente, a ocorrência de enterobactérias produtoras de carbapenemases em cães e gatos atendidos nos serviços de clínica médica e cirúrgica do Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (CJV).

4.1 Objetivos específicos

No intuito de alcançar o objetivo geral foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Obter a autorização expressa dos tutores (uso do instrumento designado “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” apresentado no Apêndice I) para a coleta de amostras;
- Coletar amostras clínicas de através da aplicação de swabs retais em animais assistidos no Setor de Cirurgia do CJV/IVISA-Rio;
- Pré-selecionar amostras resistentes através da triagem por semadura em meios contendo ceftriaxona sódica;
- Pesquisar a resistência a carbapenêmicos pelos métodos de disco-difusão e microdiluição em sistema semi-automatizado;
- Identificar as espécies dos agentes detectados como portadores de resistência a carbapenêmicos através de sistema semi-automatizado;
- Elaborar prescrição para erradicação do estado de portador dos animais onde forem detectadas enterobactérias resistentes a carbapenêmicos;
- Confirmar através da realização de novo cultivo a erradicação do estado de portador dos animais tratados;
- Explorar, nos casos positivos, possíveis correlações quanto a espécie, raça, sexo, idade, localidade, presença de contactantes, ambientação e hábitos alimentares e predatórios.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Animais

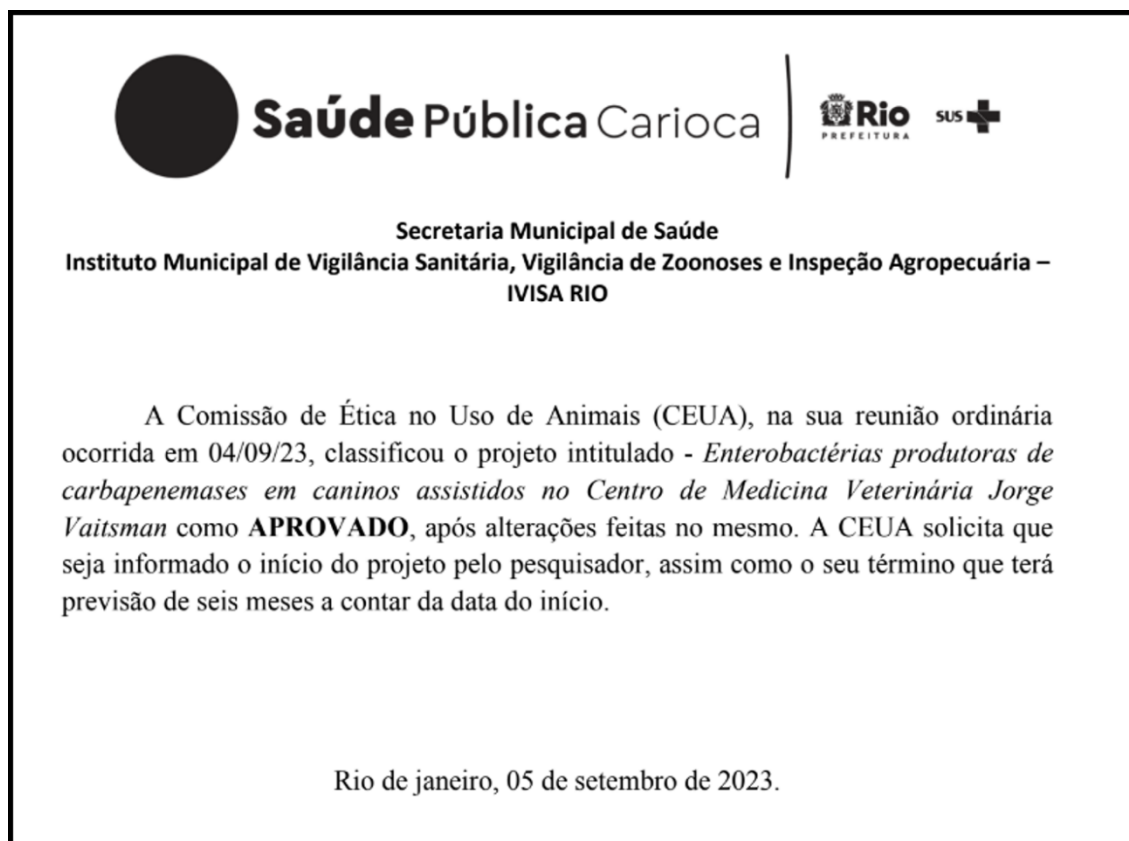
Para execução deste estudo, foram selecionados cães e gatos, adultos, machos e fêmeas, de quaisquer raças e acautelados por responsáveis que residam no município do Rio de Janeiro e assistidos no serviço de cirurgia do CJV/IVISA-Rio, no período descrito no cronograma para coleta de amostras clínicas. Foram excluídos os neonatos e filhotes.

Durante a consulta pré-cirúrgica, os respectivos responsáveis foram informados sobre o estudo e convidados à participação, onde foram apresentados ao Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE). Esse trabalho foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro e ao Comitê de Ética em pesquisa com uso em Animais do IVISA-Rio, tendo obtido aprovação em ambos (figuras 1 e 2).

Figura 1: aprovação pelo comitê de ética em pesquisa da SMS-RJ. Fonte: O Autor (2023).

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA	
Título da Pesquisa: ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE CARBAPENEMASES EM ANIMAIS ATENDIDOS NO CENTRO DE MEDICINA VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN	
Pesquisador: ANDREY JUNIO MOREIRA FERNANDES	
Área Temática:	
Versão: 2	
CAAE: 68821123.4.0000.5279	
Instituição Proponente: RIO DE JANEIRO SEC MUNICIPAL DE SAUDE	
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio	
DADOS DO PARECER	
Número do Parecer: 6.104.655	
Situação do Parecer: Aprovado	
Necessita Apreciação da CONEP: Não	
RIO DE JANEIRO, 06 de Junho de 2023	
<hr/>	
Assinado por: Salesia Felipe de Oliveira (Coordenador(a))	

Figura 2: aprovação pelo comitê de ética no uso de animais do IVISA-Rio. Fonte: O Autor (2023).



5.2 Obtenção de amostras clínicas

Em aproveitamento à sedação cirúrgica foi realizada coleta de amostra fecal através da introdução de um *swab* de algodão em região retal dos animais integrantes do estudo, segundo proposto por COLE; RANKIN, 2022.

Em seguida a coleta, as amostras foram inoculadas em tubos contendo 5 ml de meio de cultivo Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) (Merck®), contendo 2 µg/mL de ceftriaxona sódica (Eurofarma®). Esses tubos foram incubados em estufa a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$, *overnight* (por 12 a 18 horas). (BRASIL, 2013).

5.3 Ensaio de Disco-difusão em Ágar

Após incubação inicial, foi realizado subcultivo do material em placas de ágar MacConkey (Kasvi®) enriquecido com 2mg/mL de ceftriaxona sódica, onde após semeadura por esgotamento, foram dispostos dois discos de antibiograma de meropenem e ceftriaxona

(Eurofarma[®]). Após nova incubação, foi efetuada a leitura e interpretação do antibiograma, onde foram consideradas como suspeitas de EPC colônias que se desenvolveram dentro de um halo com diâmetro igual ou inferior a 27 milímetros ao redor do disco impregnado com o carbapenêmico (BRASIL, 2013).

5.4 Diagnóstico microbiológico

Após o isolamento e identificação presuntiva, as cepas bacterianas foram ressuspensas em solução salina estéril a densidade óptica de 0,55 a 0,57 (aferição no turbidímetro DensiChek plus[®] - parte do sistema Vitek[®] 2 - BioMeriéux) e, posteriormente, analisadas utilizando a metodologia de identificação semi-automatizada Vitek[®] 2 (BioMeriéux). Esse sistema emprega cartões de identificação e antibiograma, que são essenciais para a determinação rápida e precisa da espécie bacteriana e de seu perfil de resistência a antibióticos. Cada cartão contém um conjunto de poços contendo reagentes específicos que testam várias características bioquímicas das bactérias. Quando a suspensão da cultura bacteriana é inoculada no cartão, as reações bioquímicas ocorrem e são automaticamente lidas e interpretadas pelo sistema. Esse recurso não apenas identifica o agente patogênico, mas também fornece informações críticas sobre a susceptibilidade antimicrobiana, frente uma série de antimicrobianos diferentes testados (CARVALHAES et al., 2023).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As coletas de amostras foram meticulosamente programadas para ocorrer no período de setembro a novembro de 2023. A definição desse intervalo temporal foi crucial para garantir a conformidade com as diretrizes éticas e regulamentações pertinentes à pesquisa com animais, cuja aprovação ocorreu no início de setembro. Além disso, a delimitação deste período específico para a coleta permitiu a organização e preparação adequadas dos recursos necessários para realizar as análises laboratoriais. O número total de amostras obtidas é expresso na Tabela 1 abaixo:

Tabela 1: número de amostras coletadas de setembro a novembro de 2023 (n=74).

Amostras coletadas	Total
Caninos	47
Felinos	27
Total	74

A discrepância quanto ao número de amostras obtidas de cães e gatos se deu devido ao fato de que, inicialmente, o projeto havia obtido aprovação junto à CEUA para coleta em caninos. Após a constatação de que o número de felinos em atendimento na clínica cirúrgica era expressivo, notificamos a comissão para procedermos com a coleta de amostras também da espécie felina.

Todas as amostras obtidas foram submetidas a mesma sequência de análises, no intuito de pesquisar a presença de EPC.

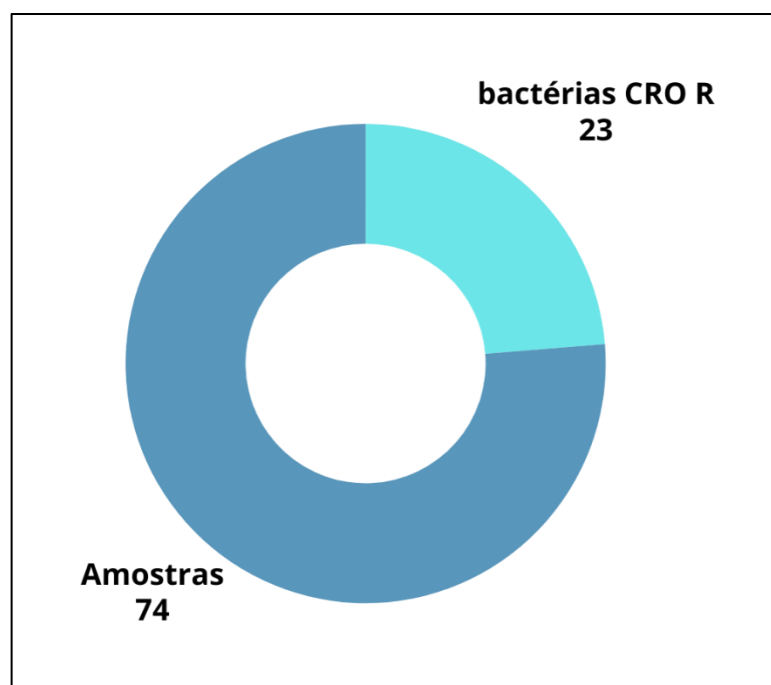
Tabela 2: presença de EPC nas amostras analisadas (n=74).

Amostras coletadas	Total	Presença de EPC
Caninos	47	0
Felinos	27	0
Total	74	0

A ausência de EPCs nas amostras pode indicar que, no momento da coleta, essas bactérias resistentes não estavam presentes ou eram muito raras entre os animais domésticos

testados. Não se pode desconsiderar que pode ser um indicativo positivo de que as EPCs ainda não são um problema significativo na população animal estudada. Entretanto, é importante considerar as limitações quanto ao tamanho da amostra e aos métodos de coleta utilizados para a detecção. Uma amostra de 74 animais pode não ser grande o suficiente para identificar a presença de EPCs, caso sua prevalência seja baixa na população estudada.

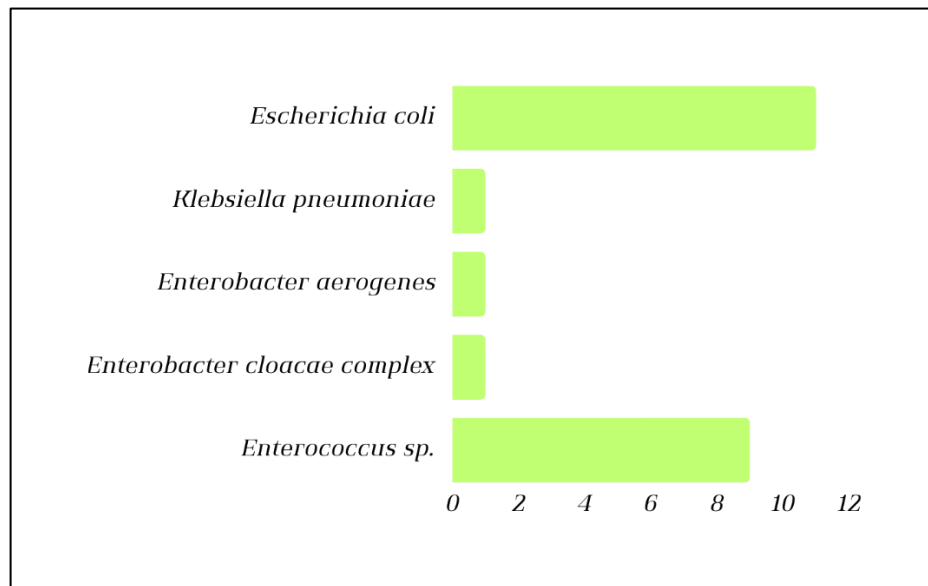
Figura 3: Proporção de isolados resistentes à ceftriaxona (n=74). Fonte: O Autor (2023).



Durante o desenvolvimento da pesquisa, inicialmente focada na detecção de EPCs em animais domésticos, um achado inesperado e significativo veio à tona, revelando que quase um terço das amostras coletadas, precisamente 23 de 74, o que corresponde a 31%, mostrou resistência à ceftriaxona (figura 3). Os animais participantes do estudo não apresentavam sinais clínicos de infecções e, segundo informação dos tutores, não estavam sob tratamento antimicrobiano.

Com relação a identificação a nível de espécie, a Figura 4 ilustra a distribuição das principais espécies bacterianas com fenótipo de resistência à ceftriaxona isoladas.

Figura 4: Distribuição das espécies bacterianas resistentes à ceftriaxona isoladas (n=23). Fonte: O Autor (2023).



A ceftriaxona, uma cefalosporina de terceira geração, é um antibiótico de amplo espectro crucial no tratamento de diversas infecções bacterianas (ASIF et al., 2023). Sua eficácia contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos a torna uma escolha comum em ambientes clínicos (STRATTON; ANTHONY, 1988). A ceftriaxona atua inibindo a síntese da parede celular bacteriana, uma ação característica das cefalosporinas, que impede a formação de ligações cruzadas essenciais para a integridade e manutenção da parede celular (BAI et al., 2023).

Apesar de sua eficácia, a resistência à ceftriaxona tem se tornado cada vez mais prevalente, o que representa um desafio significativo para a saúde pública. Os mecanismos de resistência a antibióticos como a ceftriaxona podem ser variados e complexos (BATANTOU MABANDZA et al., 2024; KANIS; PARKS; AUSTIN, 2023), como alterações nos alvos das cefalosporinas, as proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), podem contribuir para a resistência (KANIS; PARKS; AUSTIN, 2023), bem como mutação ou modificação das PBPs pode reduzir a afinidade destas proteínas pelos antibióticos, diminuindo a eficácia dos mesmos. Outro mecanismo de resistência envolve alterações na permeabilidade da membrana externa das bactérias Gram-negativas, por meio da perda ou modificação de porinas, reduzindo a entrada do antibiótico na célula (PRESTINACI; PEZZOTTI; PANTOSTI, 2015).

Um ponto crucial na resistência à ceftriaxona é a possível presença de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs). As ESBLs são uma classe de enzimas que conferem resistência a uma vasta gama de antibióticos beta-lactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração, e monobactâmicos (AMATO et al., 2023). As ESBLs são frequentemente codificadas por genes localizados em plasmídeos, o que facilita sua disseminação entre diferentes espécies bacterianas através da transferência horizontal de genes (CHOI et al., 2023; ORTIZ-DÍEZ et al., 2023).

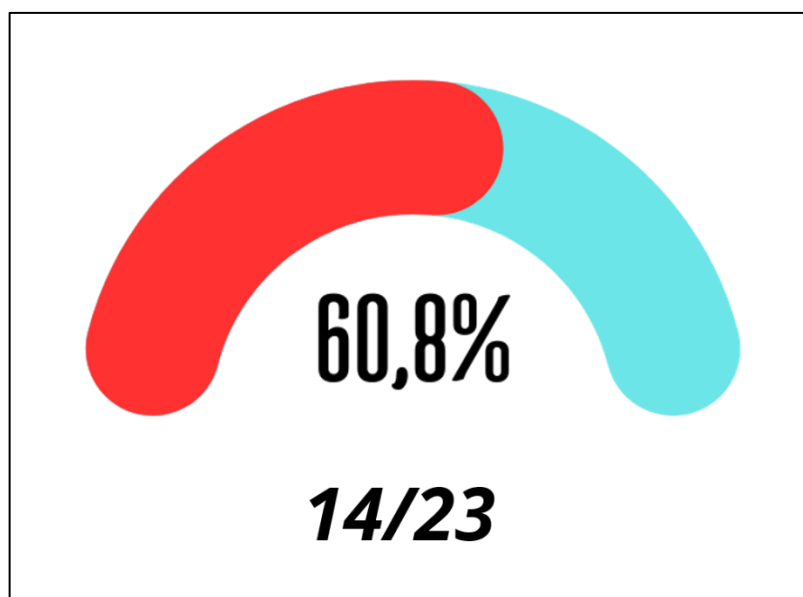
A presença de ESBLs em patógenos é particularmente preocupante, pois limita as opções de tratamento disponíveis e é frequentemente associada a um aumento nas taxas de morbidade e mortalidade (AMATO et al., 2023; BATANTOU MABANDZA et al., 2024). Além disso, a presença de ESBLs pode ser indicativa de um espectro mais amplo de resistência antimicrobiana, incluindo resistência a outras classes de antibióticos (como fluorquinolonas, aminoglicosídeos sulfonamidas entre outros) (ABAYNEH; WORKU, 2020).

Os animais de estimação estão expostos ao risco de contaminação e colonização por microrganismos patogênicos e resistentes a antimicrobianos através de suas dietas (MORGAN et al., 2023). Especificamente, dietas à base de carne crua para cães apresentaram contaminação por enterobactérias zoonóticas e antimicrobianos resistentes, como bactérias produtoras de ESBL e outras resistentes a antibióticos importantes. Essa descoberta é preocupante não só para a saúde dos animais, mas também para a saúde pública, devido ao potencial de tais patógenos resistentes serem transmitidos para os humanos (AMATO et al., 2023).

O documento da OMS "*WHO integrated global surveillance on ESBL-producing E. coli using a 'One Health' approach*" (WHO, 2021) destaca a importância de *Escherichia coli* produtora de ESBL como um indicador chave para a vigilância global integrada da resistência antimicrobiana. A OMS considera, então, estes como patógenos prioritários devido à sua resistência a múltiplos antibióticos importantes, incluindo as cefalosporinas de terceira geração. A escolha deste patógeno como indicador reflete sua relevância na compreensão da magnitude e tendências globais do problema da AMR.

Portanto, a detecção de resistência à ceftriaxona em uma proporção significativa das amostras deste estudo sugeriu fortemente a necessidade de investigar a presença de ESBLs. Desta maneira, através da metodologia automatizada previamente citada (Vitek® 2, BioMérieux), investigou-se a ocorrência de ESBL entre os microrganismos isolados resistentes à ceftriaxona (Figura 5).

Figura 5: Prevalência de enterobactérias produtoras de ESBL entre os microrganismos resistentes à ceftriaxona (n=23). Fonte: O Autor (2023).



Assim, nossos achados refletem que 60,8% dos isolados resistentes à ceftriaxona, tratavam-se de enterobactérias (sendo 78,5% identificadas como *E. coli*) produtoras de ESBL. Esses achados podem ser enriquecidos com posteriores análises moleculares, a fim de se investigar a quais genes específicos tais resistências estão relacionadas, corroborando para a epidemiologia molecular (FALODUN; AFOLABI; RABIU, 2022; SILVA et al., 2024).

Interessantemente, foram observados espécimes resistentes à vancomicina dentre os isolados nesta pesquisa.

A vancomicina, um antibiótico glicopeptídeo, foi descoberta em 1953 a partir de culturas de *Streptomyces orientalis*, encontrada na selva de Bornéu (LEVINE, 2006). Ela é amplamente usada para tratar infecções graves causadas por bactérias Gram-positivas resistentes a outros antibióticos, incluindo *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e infecções por *Enterococcus* (F.R. BRUNIERA et al., 2015). Seu mecanismo de ação consiste em inibir a síntese da parede celular bacteriana, especificamente interrompendo a formação de ligações peptídicas essenciais para a construção da parede celular (RYBAK, 2006).

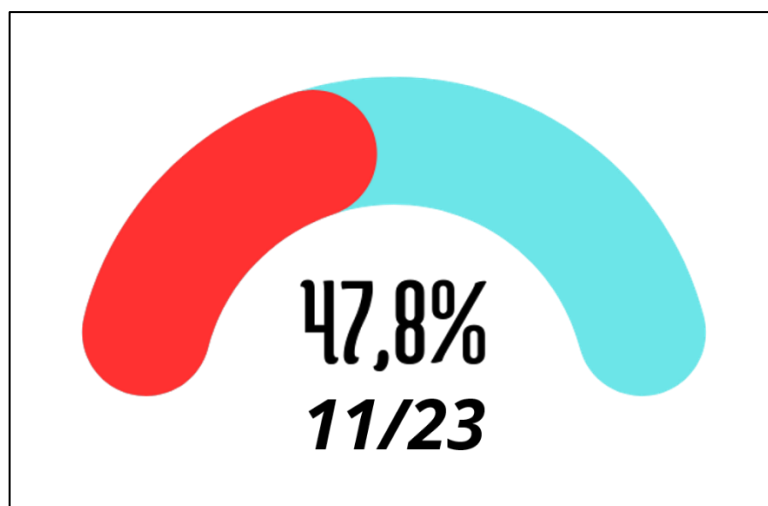
A resistência à vancomicina, no entanto, tornou-se um problema significativo. Existem vários mecanismos pelos quais as bactérias desenvolvem resistência a este antibiótico. O mais comum envolve alterações nos precursores da parede celular. Em bactérias resistentes, as

extremidades terminais D-alanina-D-alanina das unidades peptidoglicanas são alteradas, o que reduz a afinidade da vancomicina e impede sua ação antibacteriana. Essas alterações são tipicamente devido a genes de resistência, como o gene *vanA* em *Enterococcus* (ORABABA et al., 2021).

É crucial destacar a importância da resistência à vancomicina em *Enterococcus*, especialmente em *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*, no contexto da saúde pública. *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) representa um desafio significativo em ambientes hospitalares, onde pode causar infecções graves, incluindo bacteremia, endocardite e infecções do trato urinário. A natureza resistente dessas infecções complica o tratamento e aumenta a morbidade e a mortalidade entre os pacientes (ALEMAYEHU; HAILEMARIAM, 2020).

Além disso, a capacidade do VRE de transferir genes de resistência para outras bactérias patogênicas, como *Staphylococcus aureus*, agrava ainda mais o problema. Este fenômeno aumenta a disseminação da resistência antimicrobiana e limita as opções de tratamento disponíveis. Dada a disseminação rápida e a resistência dos VREs, são necessárias medidas de controle de infecção rigorosas em ambientes hospitalares, incluindo higiene rigorosa, uso prudente de antibióticos e vigilância contínua (JOSHI; SHALLAL; ZERVOS, 2021). A figura 6 ilustra o percentual de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina isolados durante a pesquisa.

Figura 6: Prevalência de VRE dentre as amostras isoladas (n=23). Fonte: O Autor.



A resistência à vancomicina em *Enterococcus* é, assim, não apenas um desafio clínico, mas também um problema de saúde pública. Isso destaca a necessidade urgente de novas estratégias terapêuticas, pesquisa contínua e políticas eficazes para gerenciar e prevenir a disseminação de resistência antimicrobiana (ALEMAYEHU; HAILEMARIAM, 2020; KAHN, 2017).

É importante ressaltar que, em dois casos (8,6%), ocorreu a presença concomitante de ambos os microrganismos, ou seja, na amostra em questão foi possível isolar uma enterobactéria produtora de ESBL e um enterococo resistente à vancomicina (VRE). Outro dado interessante obtido reflete que, considerando o total de VRE isolados, 63,6% destes foram obtidos das amostras de felinos. Em outro paralelo, isso quer dizer que 25,9% (7 de 27 amostras) dos felinos testados, eram portadores de VRE, conforme ilustrado pela tabela 3 abaixo.

Tabela 3: Prevalência de enterococos resistentes à vancomicina dentre as amostras (n=11).

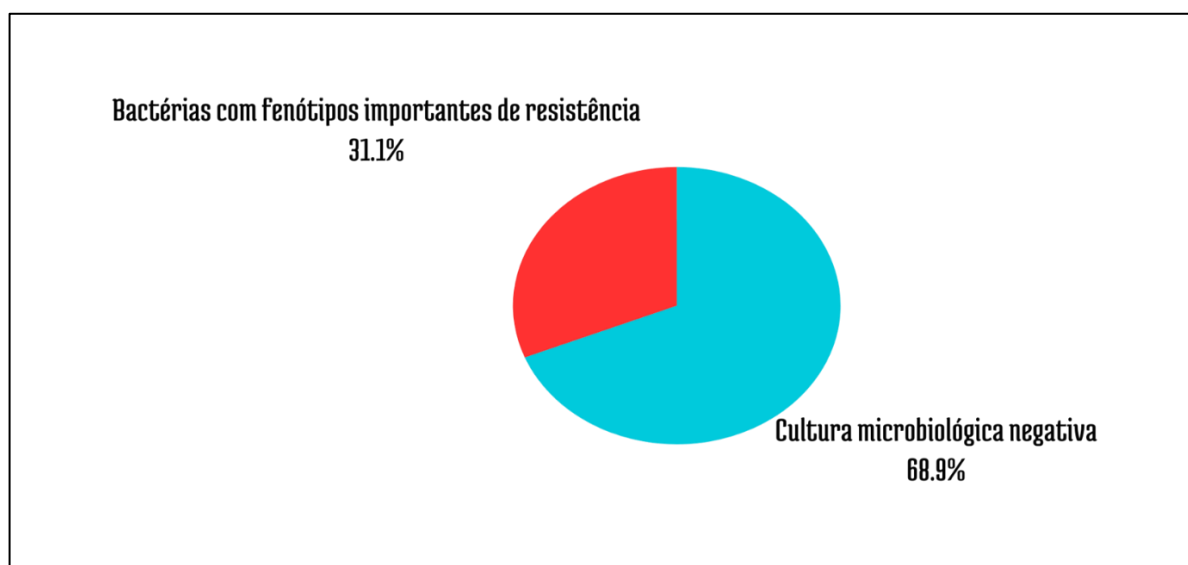
VRE	Total	Razão por total de amostras
Caninos	4	8,5%
Felinos	7	25,9%
Total	11	---

Com relação à vancomicina, destaca-se que a presença dos operons vanA e vanB, associados à resistência à vancomicina em *Enterococcus*, são os mais relevantes epidemiologicamente, uma vez que estão ligados a elementos genéticos móveis - e, portanto, passíveis de disseminação. Em contraste, os operons vanC, comumente encontrados em *Enterococcus gallinarum* e *Enterococcus casseliflavus* (vanC1 em *E. gallinarum* e vanC2/3 em *E. casseliflavus*), são inerentes/constitutivos a estes, conferem resistência aos glicopeptídeos, mas não são comumente associados à transferência horizontal de genes (SACRAMENTO et al., 2022). Essa característica limita o potencial de disseminação dessa resistência, tornando-os menos preocupantes do ponto de vista da saúde pública em comparação com *E. faecium* e *E. faecalis*, que podem adquirir e disseminar resistência de forma mais eficaz (ALEMAYEHU; HAILEMARIAM, 2020; ORABABA et al., 2021). Mesmo que na literatura se aponte a presença marcante de *E. faecium* principalmente em gatos (TUMPA; ŠTRITOF; PINTARIĆ,

2022), ainda assim, de modo que a identificação dos enterococos se deu somente a nível de gênero, visto que não eram inicialmente o objeto central do estudo, são necessárias avaliações futuras quanto as espécies isoladas (se *E. faecalis* e/ou *E. faecium*) e se portadores de genes relevantes para a saúde pública.

A condução deste trabalho, embora inicialmente focada na pesquisa de enterobactérias produtoras de carbapenemases, permitiu a avaliação da resistência a antimicrobianos por uma outra perspectiva (Figura 7).

Figura 7: Proporção de bactérias com fenótipos importantes de resistência (n=74). Fonte: O Autor.



Inicialmente, a pesquisa não identificou bactérias produtoras de carbapenemases (ou resistentes aos carbapenêmicos, achado semelhante ao de FURUYA et al. (2022)), mas revelou a presença significativa de microrganismos com fenótipos importantes de resistência, como enterobactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e enterococos resistentes à vancomicina. Assim, observamos que quase um terço dos isolados oriundos de *swabs* retais de cães e gatos caracterizam-se por microrganismos com fenótipos importantes de resistência antimicrobiana.

7. CONCLUSÃO

Com base no que foi discutido no presente trabalho, pudemos inferir que:

- Os métodos aplicados no estudo se prestam ao monitoramento, através da triagem de culturas de vigilância, de microrganismos multirresistentes em animais domésticos assistidos no CJV/IVISA-Rio, uma vez que os materiais e equipamentos utilizados já são utilizados na rotina de diagnóstico microbiológico, sendo necessário a adequação na aquisição dos insumos (aumento das quantidades para adição desta nova rotina) e a ampliação do quadro de funcionários, uma vez que, no momento este se encontra reduzido pela saída de dois funcionários do setor;
- Os animais domésticos são potenciais portadores de microrganismos multirresistentes, por isso, pesquisas adicionais são necessárias para compreender melhor a epidemiologia e os mecanismos da disseminação nas populações animais, ambiente e seu impacto potencial na saúde humana, o monitoramento da dispersão de mecanismos representa um importante ponto de partida para os estudos;
- A resistência observada à ceftriaxona denota a urgência da implantação de uma rotina de monitoramento para a vigilância contínua e estratégias de gestão para o controle da resistência antimicrobiana nessa população de animais, incluindo o incentivo ao uso prudente de antibióticos em medicina veterinária e humana, bem como a implementação de medidas de controle de infecção para prevenir a disseminação de bactérias resistentes;
- O monitoramento da resistência antimicrobiana corrobora para o combate a disseminação de microrganismos resistentes em populações de animais de companhia, vindo ao encontro do Princípio da Precaução, que norteia o controle de infecções relacionadas a assistência a saúde, dentro da perspectiva de que o CJV/IVIS-Rio atua fundamentalmente como uma Unidade de Assistência a Saúde, e ainda representa uma importante medida para a abordagem “*One Health*” a resistência a antimicrobianos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAYNEH, M.; WORKU, T. **Prevalence of multidrug-resistant and extended-spectrum beta-lactamase (Esbl)-producing gram-negative bacilli: A meta-analysis report in ethiopia.** *Drug Target Insights*AboutScience Srl, 1 jan. 2020.

ALEMAYEHU, T.; HAILEMARIAM, M. Prevalence of vancomycin-resistant enterococcus in Africa in one health approach: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.

AMATO, H. K. et al. Risk factors for extended-spectrum betalactamase (ESBL)-producing *E. coli* carriage among children in a food animal-producing region of Ecuador: A repeated measures observational study. *PLoS Medicine*, v. 20, n. 10, 1 out. 2023.

ANDERSON, R. E. V; BOERLIN, P. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in animals and methodologies for their detection. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 2020.

ARMSTRONG, T.; FENN, S. J.; HARDIE, K. R. JMM Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic. *Journal of Medical Microbiology*, v. 70, n. 12, 2021.

ASIF, M. et al. Ceftriaxone-Associated Severe Acute Hepatitis. *Cureus*, 19 mar. 2023.

ASLAM, B. et al. **Antibiotic Resistance: One Health One World Outlook.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*Frontiers Media S.A., 25 nov. 2021.

BAI, A. D. et al. Ceftriaxone and the Risk of Ventricular Arrhythmia, Cardiac Arrest, and Death among Patients Receiving Lansoprazole. *JAMA Network Open*, v. 6, n. 10, p. E2339893, 26 out. 2023.

BASSETTI, M. et al. New antibiotics for Gram-negative pneumonia. *European Respiratory Review*, v. 31, n. 166, 1 dez. 2022.

BATANTOU MABANDZA, D. et al. Do Microorganisms in Bathing Water in Guadeloupe (French West Indies) Have Resistance Genes? *Antibiotics*, v. 13, n. 1, p. 87, 16 jan. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Saúde Única 2018-2022.** Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Agropecuária 2018-2022.** Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018.

BRIGHT-PONTE, S. J. et al. **One Health and antimicrobial resistance, a United States perspective. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)** NLM (Medline), 1 maio 2019.

CARVALHAES, C. G. et al. Performance of the Vitek 2 Advanced Expert System (AES) as a Rapid Tool for Reporting Antimicrobial Susceptibility Testing (AST) in Enterobacterales from North and Latin America. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 1, 14 fev. 2023.

CHEN, L. et al. **Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae: Molecular and genetic decoding. Trends in Microbiology** Elsevier Ltd, 1 dez. 2014.

CHOI, J. H. et al. Prevalence and Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Escherichia coli Isolated from Dogs and Cats in South Korea. **Antibiotics**, v. 12, n. 4, 1 abr. 2023.

COLE, S. D.; RANKIN, S. C. Characterization of 2 Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing Enterobacterales isolated from canine rectal swabs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 34, n. 2, p. 306–309, 1 mar. 2022a.

COLE, S. D.; RANKIN, S. C. Characterization of 2 Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing Enterobacterales isolated from canine rectal swabs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 34, n. 2, p. 306–309, 1 mar. 2022b.

CONCEIÇÃO, S.; QUEIROGA, M. C.; LARANJO, M. **Antimicrobial Resistance in Bacteria from Meat and Meat Products: A One Health Perspective. Microorganisms** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 1 out. 2023.

CRUZ, R. F.; SILVA, G. M. M.; MAGALHÃES, M. DA C. Perfil microbiológico dos pacientes submetidos à cultura de vigilância ativa em um hospital universitário da Região Sudeste de Minas Gerais. **HU Revista**, v. 44, p. 361–367, 2019.

DAOUD, Z.; ROLAIN, J. M. **Editorial: “One Health” Approach for Revealing Reservoirs and Transmission of Antimicrobial Resistance. Frontiers in Microbiology** Frontiers Media S.A., 17 jan. 2022.

FALODUN, O. I.; AFOLABI, M. C.; RABIU, A. G. Detection of extended Spectrum β -lactamase (ESBL) genes in Escherichia coli isolated from fecal samples of apparently healthy dogs in Ibadan, Nigeria. **Animal Gene**, v. 26, 1 set. 2022.

F.R. BRUNIERA et al. The use of vancomycin with its therapeutic and adverse effects - a review. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 19, p. 694–700, 2015.

FURUYA, Y. et al. Nationwide Monitoring of Antimicrobial-Resistant Escherichia coli and Enterococcus spp. Isolated From Diseased and Healthy Dogs and Cats in Japan. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, 24 jun. 2022.

GONG, W.-T. et al. Efficacy of Zidovudine-Amikacin Combination Therapy In Vitro and in a Rat Tissue Cage Infection Model against Amikacin-Resistant, Multidrug-Resistant Enterobacteriales. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 2, 13 abr. 2023.

HAN, R. et al. Dissemination of Carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) Among Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolated From Adult and Children Patients in China. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, 3 jul. 2020.

HERNANDO-AMADO, S. et al. **Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives**. **Nature Microbiology** Nature Publishing Group, , 1 set. 2019.

HUANG, T. D. et al. Multicentre evaluation of the check-direct CPE® assay for direct screening of carbapenemase-producing enterobacteriaceae from rectal swabs. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 6, p. 1669–1673, 12 nov. 2014.

IOVLEVA, A.; DOI, Y. **Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae**. **Clinics in Laboratory Medicine** W.B. Saunders, 1 jun. 2017.

JOSHI, S.; SHALLAL, A.; ZERVOS, M. **Vancomycin-Resistant Enterococci: Epidemiology, Infection Prevention, and Control**. **Infectious Disease Clinics of North America** W.B. Saunders, 1 dez. 2021.

KAHN, L. H. **Antimicrobial resistance: A One Health perspective**. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** Oxford University Press, 1 jun. 2017.

KANIS, E.; PARKS, J.; AUSTIN, D. L. Structural Analysis and Protein Binding of Cephalosporins. **ACS Pharmacology and Translational Science**, v. 6, n. 1, p. 88–91, 13 jan. 2023.

KARAMPATAKIS, T.; TSERGOULI, K.; BEHZADI, P. **Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae: Virulence Factors, Molecular Epidemiology and Latest Updates in Treatment Options**. **Antibiotics** MDPI, 1 fev. 2023.

KIM, S. H. et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriales from hospital environment and their relation to those from patient specimens. **Journal of Infection and Public Health**, v. 15, n. 2, p. 241–244, 1 fev. 2022.

LEPE, J. A.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L. Resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. **Medicina Intensiva (English Edition)**, v. 46, n. 7, p. 392–402, jul. 2022.

LEVINE, D. P. Vancomycin: A History. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, p. S5-12, 2006.

LIVERMORE, D. M. et al. Carbapenem-resistant enterobacteriales, carbapenem resistant organisms, carbapenemase-producing enterobacteriales, and carbapenemase-producing organisms: Terminology past its “sell-by date” in an era of new antibiotics and regional

carbapenemase epidemiology. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 7, p. 1776–1782, 1 out. 2020.

MA, J. et al. **Global spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy**. **Microbiological Research** Elsevier GmbH, 1 jan. 2023.

MORGAN, G. et al. An investigation of the presence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae in raw and cooked kibble diets for dogs in the United Kingdom. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 2023.

NAKAZATO, G. et al. **Editorial: Resistance and virulence in Enterobacteriales from different sources**. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** Frontiers Media S.A., 7 fev. 2023.

NORDMANN, P.; POIREL, L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. **Clinical Infectious Diseases**, v. 69, p. S521–S528, 13 nov. 2019.

ORABABA, O. Q. et al. A systematic review and meta-analysis on the prevalence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) among Nigerians. **Porto Biomedical Journal**, v. 6, n. 1, p. e125, jan. 2021.

ORTIZ-DÍEZ, G. et al. Prevalence, incidence and risk factors for acquisition and colonization of extended-spectrum beta-lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from dogs attended at a veterinary hospital in Spain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 92, 1 jan. 2023.

PAN, F. et al. Prevalence of intestinal colonization and nosocomial infection with carbapenem-resistant Enterobacteriales in children: a retrospective study. **Frontiers in Public Health**, v. 11, 2023.

PAPP-WALLACE, K. M. et al. **Carbapenems: Past, present, and future**. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, nov. 2011.

POHLENZ, T. D. et al. Prevalence of shiga-toxigenic Escherichia coli in house flies (Diptera: Muscidae) in an urban environment. **Journal of Medical Entomology**, v. 55, n. 2, p. 436–439, 28 fev. 2018.

PRESTINACI, F.; PEZZOTTI, P.; PANTOSTI, A. **Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon**. **Pathogens and Global Health** Maney Publishing, 1 out. 2015.

PULSS, S. et al. Multispecies and clonal dissemination of OXA-48 carbapenemase in Enterobacteriaceae from companion animals in Germany, 2009-2016. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. JUN, 14 jun. 2018.

REHMAN, S. **A parallel and silent emerging pandemic: Antimicrobial resistance (AMR) amid COVID-19 pandemic.** *Journal of Infection and Public Health* Elsevier Ltd, 1 abr. 2023.

RINCÓN-REAL, A. A.; SUÁREZ-ALFONSO, M. C. Carbapenem resistance in critically important human pathogens isolated from companion animals: a systematic literature review. *Osong Public Health and Research Perspectives*, v. 13, n. 6, p. 407–423, 31 dez. 2022.

RONG, F. et al. Epidemiological and Molecular Characteristics of blaNDM-1 and blaKPC-2 Co-Occurrence Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and Drug Resistance*, v. 16, p. 2247–2258, 2023.

RYBAK, M. J. **The Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Vancomycin** *Clinical Infectious Diseases*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/42/Supplement_1/S35/275535>.

SACRAMENTO, A. G. et al. **WHO critical priority van-type vancomycin-resistant Enterococcus in dogs and cats.** *Preventive Veterinary Medicine*, Elsevier B.V., 1 maio 2022.

SILVA, B. A. et al. Characterization of ESBL/AmpC-producing extraintestinal *Escherichia coli* (ExPEC) in dogs treated at a veterinary hospital in Brazil. *Research in Veterinary Science*, v. 166, 1 jan. 2024.

SINCLAIR, J. R. **Importance of a One Health approach in advancing global health security and the Sustainable Development Goals.** *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* NLM (Medline), 1 maio 2019.

SINGHAL, T. **Antimicrobial Resistance: The “Other” Pandemic!: Based on 9th Dr. I. C. Verma Excellence Award for Young Pediatricians Delivered as Oration on 19th Sept. 2021.** *Indian Journal of Pediatrics*. Springer, 1 jun. 2022.

STRATTON, C.; ANTHONY, L. **A review of ceftriaxone: a long-acting cephalosporin** *Article in The American Journal of the Medical Sciences*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/20104344>>.

SY, C. L. et al. **Recommendations and guidelines for the treatment of infections due to multidrug resistant organisms.** *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, Elsevier Ltd, 1 jun. 2022.

TOOMBS-RUANE, L. J. et al. **Multidrug resistant Enterobacteriaceae in New Zealand: a current perspective.** *New Zealand Veterinary Journal*. Taylor and Francis Ltd., 4 mar. 2017.

TUMPA, A.; ŠTRITOF, Z.; PINTARIĆ, S. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Enterococcus* spp. from urine of dogs and cats in northwestern Croatia. *Research in Veterinary Science*, v. 151, p. 42–46, 10 dez. 2022.

VAN DUIN, D.; PATERSON, DL. Multidrug-resistant bacteria in the community: Trends and lessons learned. **Infectious Diseases Clinical North America.**; v. 30, p. 377-90. 2016.

VAN DUIN, D.; DOI, Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **Virulence** ; v. 8, p. 460-469. 2017.

WALIA, K. et al. **How can lessons from the COVID-19 pandemic enhance antimicrobial resistance surveillance and stewardship? The Lancet Infectious Diseases** Elsevier Ltd, 1 ago. 2023.

ZHU, Z. et al. Epidemiological characteristics and molecular features of carbapenem-resistant Enterobacter strains in China: a multicenter genomic study. **Emerging Microbes and Infections**, v. 12, n. 1, 2023.

APENDICE I – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o projeto e solicitar a sua permissão para que o senhor (a), enquanto responsável pelo presente animal, permita a realização dos procedimentos abaixo descritos e posterior publicação de resultados em meios científicos como revistas, congressos e/ou reuniões científicas de profissionais da saúde ou afins. Por favor, leia este documento com atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o (a) senhor (a) não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-lo.

Sua participação neste projeto não é obrigatória e não há possibilidade de pagamento pela participação. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento durante a realização do projeto, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você e seu animal recebem ou possam vir a receber na instituição.

Você está sendo convidado (a) a participar como voluntário, juntamente com seu animal doméstico, do projeto de pesquisa intitulado: **PREVALÊNCIA DE ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE CARBAPENEMASES EM CANINOS ASSISTIDOS NO CENTRO DE MEDICINA VETERINÁRIA JORGE VAITSMAN** cujo objetivo é pesquisar a presença de bactérias resistentes a diversos antibióticos que pode estar vivendo no intestino do seu animal. Este projeto pode trazer benefícios para os animais ao revelar quais são portadores deste grupo de bactérias permitindo que estas sejam eliminadas através do uso de antimicrobianos específicos.

Se o(a) Sr.(a) autorizar a participação de seu animal nesta pesquisa, será realizada uma coleta de amostra fecal da região anorretal, com o auxílio de um swab de algodão (tipo um "cotonete") na porção terminal do reto do seu animal (similar ao termômetro para verificar febre). Uma vez que seu animal tenha sido anestesiado para a cirurgia, não será necessário conter seu animal durante a coleta e o procedimento não causará estresse nem desconforto. Após a coleta, o material será enviado para o laboratório para investigação. Caso seu animal seja identificado como portador, no retorno para revisão da cirurgia, você será orientado, pelo pesquisador responsável, quanto ao tratamento e cuidados para evitar que estas bactérias sejam transmitidas para outros animais ou contaminem o meio ambiente e receberá a medicação específica para eliminar o estado de portador. As bactérias isoladas neste trabalho serão avaliadas quanto a diversas propriedades biológicas, genéticas e de patogenicidade para esclarecer mecanismos fundamentais para o desenvolvimento de infecções, podendo ser encaminhadas para outras instituições de ensino e pesquisa parceiras para realização de análises adicionais. Todas as análises do projeto serão realizadas sem custos para os tutores. Você poderá ter livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o trabalho e suas consequências, enfim, tudo o que queira saber antes, durante e depois da sua participação.

Caso o(a) Sr.(a) tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Andrey Junio Moreira Fernandes, pelo telefone (21) 98149-9283, no Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman, localizado na Avenida Bartolomeu de Gusmão, 1120, nos horários de 09:00 às 16:00, e/ou pelo e-mail andreyfernandesvet@gmail.com ou o respectivo orientador, Cintia Silva dos Santos, pelo telefone (21) 999245400, endereço Centro de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman, localizado na Avenida Bartolomeu de Gusmão, 1120, nos horários de 09:00 às 16:00, e/ou pelo e-mail labzoonoses.micoebac@gmail.com; bem como com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/SMS - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA; SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DO RIO DE JANEIRO, na Rua Evaristo da Veiga 16, 4º andar, Centro - Cep: 40.110-060, Telefone: (21) 2215-1485 / Email: cepsmsrj@yahoo.com

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma sua e a outra para o pesquisador.

() Concordo em participar do estudo

() Não Concordo em participar deste estudo

Rubrica do participante/responsável

Rubrica do pesquisador

Animal participante

Nome: _____

Espécie: () Canino () Felino

Sexo: () Macho () Fêmea

Número do microchip: _____

Nome do responsável

Assinatura do responsável

Data: ____/____/____

Eu, Andrey Junio Moreira Fernandes, declaro cumprir as exigências contidas nos itens IV.3 e IV.4, da Resolução nº 466/2012 MS.

Data: ____/____/____

Andrey Junio Moreira Fernandes
Médico Veterinário CRMV/RJ 17428
Pesquisador Responsável

Rubrica do pesquisador

Rubrica do participante/responsável

Página 2 de 2