



Universidade De Brasília

Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

**Caracterização de *Escherichia coli* Patogênica Intestinal e Correlação com
o Saneamento Básico do Domicílio de Cães Atendidos no Hospital
Veterinário da Universidade de Brasília**

Flávia Santana Lima

Dissertação de Mestrado em Saúde Animal

Brasília/DF

Julho/2023



Universidade De Brasília

**Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**

**Caracterização de *Escherichia coli* Patogênica Intestinal e Correlação com
o Saneamento Básico do Domicílio de Cães Atendidos no Hospital
Veterinário da Universidade de Brasília**

Flávia Santana Lima

Orientadora: Prof. Dr.^a Simone Perecmanis

Dissertação de Mestrado em Saúde Animal

Brasília/DF

Julho/2023



Universidade De Brasília

**Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**

**Caracterização de *Escherichia coli* Patogênica Intestinal e Correlação com
o Saneamento Básico no Domicílio de Cães Atendidos no Hospital
Veterinário da Universidade de Brasília**

Flávia Santana Lima

**Dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação em Saúde Animal,
como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de mestre em Saúde Animal.**

APROVADA POR:

**PROF^a. DR^a. SIMONE PERECMANIS (Universidade de Brasília)
(ORIENTADORA)**

**PROF^a. DR^a. ANGELA PATRÍCIA SANTANA (Universidade de Brasília)
(EXAMINADORA INTERNA)**

**DR^a. LORENA FERNANDES ARRUDA (Governo do Distrito Federal)
(EXAMINADORA EXTERNA)**

BRASÍLIA, 26 DE JULHO DE 2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço e dedico este trabalho a minha mãe Amilta Maria, que sempre será minha maior inspiração e incentivo, no plano material e espiritual. Com ela aprendi o que é o amor, e carrego este sentimento em todas as esferas de minha vida, como neste trabalho. Obrigada, amada mãe!

Agradeço a todos os amigos que me auxiliaram neste trabalho, a minha orientadora Simone Perecmanis que sempre será uma mãe da UnB para todos nós, ao Rômulo Salignac que me apoiou muito e que já me dá orgulho pelo profissional que está se tornando e aos meus outros amigos técnicos de laboratório, residentes (em especial os da DIP e da Clínica Médica), mestrandos, doutorandos, professores e trabalhadores da limpeza. Pelo apoio na pesquisa até as deliciosas companhias nos cafés e cervejas, muito obrigada queridos! Agradeço também a todos os tutores e as fofuras de cães que participaram desta pesquisa.

Por último, mas não menos importante, agradeço aos meus familiares que me apoiaram tanto em mais essa jornada da vida, em especial meus irmãos Ângela e Roni, meus sobrinhos Alejandro e Richard e sua companheira Weliana e meus cunhados Kelly e Guimarães. Agradeço também aos amigos queridos que me inspiram e me apoiaram nesta tarefa, em especial Ana Paula, Juan Carlos, Werick, Camila Firmino, Ane, Amandas, Beatriz, Bryan, Jéssica, Dalila, Luciana. Fernando, Thais e Tairine.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

SS232c Santana Lima, Flávia
Caracterização de Escherichia coli Patogênica Intestinal e Correlação com o Saneamento Básico no Domicílio de Cães Atendidos no Hospital Veterinário da UnB / Flávia Santana Lima; orientador Simone Perecmanis. -- Brasília, 2023.
61 p.

Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) -- Universidade de Brasília, 2023.

1. Escherichia coli. 2. resistência antimicrobiana. 3. infecção intestinal. 4. cães. 5. saneamento básico. I. Perecmanis, Simone, orient. II. Título.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

LIMA, F. S. **Caracterização de Escherichia coli Patogênica Intestinal e Correlação com o Saneamento Básico do Domicílio de Cães Atendidos no Hospital Veterinário da Universidade de Brasília**, Universidade de Brasília, 2023, 61 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Flávia Santana Lima

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Caracterização de Escherichia coli Patogênica Intestinal e Correlação com o Saneamento Básico do Domicílio de Cães Atendidos no Hospital Veterinário da Universidade de Brasília

GRAU: Mestrado

ANO: 2023

É concedida à Universidade de Brasília de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

Nome: Flávia Santana Lima

CPF: 02779543124

Tel: (61) 981945375

Email: flavia.slima01@gmail.com

Endereço: QNO 16, conjunto 75, casa 57 – Ceilândia Norte

RESUMO

Bactérias da espécie *Escherichia coli* são comensais do sistema digestivo dos animais, porém existem cepas patogênicas capazes de causar infecções intestinais e extraintestinais. As cepas patogênicas intestinais podem acometer diferentes animais, inclusive humanos, causando principalmente diarreia, e os principais fatores de virulência podem ser a presença de determinadas adesinas, toxinas e elementos genéticos móveis. A ocorrência de doenças diarreicas relacionadas a *E. coli* patogênica intestinal é maior em localidades com saneamento básico deficitário. A crescente resistência antimicrobiana de cepas de *E. coli* também vem sendo um desafio quanto ao tratamento dessas infecções. A ocorrência dessas bactérias em uma diversidade de animais e a grande proximidade de tutores e seus animais domésticos, trazem a preocupação quanto ao potencial zoonótico desses microrganismos. Este trabalho teve como objetivo detectar cepas de *E. coli* patogênicas intestinais em fezes de cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade de Brasília, uma possível correlação da ocorrência dessas cepas com o saneamento básico do local de residência do animal e a sensibilidade antimicrobiana desses isolados. Para isso, foram coletadas amostras de fezes de 66 cães atendidos na clínica médica, das quais houve o isolamento de *E. coli* de 54 amostras. Foi também aplicado um questionário com os tutores com perguntas relativas a informações dos animais e condições de saneamento básico de suas residências. Essas 54 cepas foram testadas em exame de PCR para alguns dos principais genes de *E. coli* patogênica intestinal: *eae*, F41, K99, LT-1, LT-2, STa, STb, Stx1 e Stx2. Foi feito o antibiograma dessas cepas para testar a sensibilidade aos seguintes antibióticos: amoxicilina, amoxicilina/ ácido clavulânico, ampicilina, ampicilina/sulbactam, aztreonam, cefalexina, cefepime, ceftizoxima, ceftriaxona, enrofloxacina, gentamicina, imipenem, marbofloxacina, meropenem, sulfazotrim, sulfonamidas, tetraciclina e tobramicina. Cinco amostras apresentaram resultado positivo para a presença do gene da intimina (*eae*) (9,3%), o que caracteriza essas cepas como enteropatogênicas. Para os demais genes, os resultados foram negativos. Houve uma correlação entre cães com isolados de *E. coli eae+* e más condições de saneamento básico em suas moradias, já que foi identificado que das quatro residências que apresentavam fossas rudimentares para o escoamento de águas residuais, em duas foram identificados animais com essas cepas enteropatogênicas, o que também pode proporcionar um risco de contaminação de águas subterrâneas. A multiresistência antimicrobiana foi detectada amplamente em grande parte dos isolados, tendo os antibióticos penicilinas associadas com inibidores de β -lactamase e fluoroquinolonas como os que tiveram maior sensibilidade, mas ainda assim com um número significativo de cepas resistentes. A investigação sobre a ocorrência de *E. coli*, incluindo a emergência de novas cepas patogênicas e resistentes a antimicrobianos, a prevenção e o controle devem ser contínuos e ter a concepção de saúde única como central nessas abordagens, visto a complexidade de fatores que determinam essa ocorrência, tendo humanos, animais e ambiente como peças fundamentais para a melhor compreensão e tomada de decisão.

Palavras chave: *Escherichia coli*, resistência antimicrobiana, infecção intestinal, cães, saneamento básico

ABSTRACT

Bacteria of the *Escherichia coli* species are commensals of the digestive system of animals, but there are pathogenic strains capable of causing intestinal and extraintestinal infections. Intestinal pathogenic strains can affect different animals, including humans, mainly causing diarrhea, and the main virulence factors may be the presence of certain adhesins, toxins and mobile genetic elements. The occurrence of diarrheal diseases related to intestinal pathogenic *E. coli* is higher in places with poor basic sanitation. The growing antimicrobial resistance of *E. coli* strains has also been a challenge regarding the treatment of these infections. The occurrence of these bacteria in a variety of animals and the close proximity of tutors and their domestic animals raise concerns about the zoonotic potential of these microorganisms. This search aimed to detect intestinal pathogenic *E. coli* strains in feces of dogs treated at the Veterinary Hospital of the University of Brasília, a possible correlation between the occurrence of these strains and the basic sanitation of the animal's place of residence and the antimicrobial sensitivity of these isolates. For this, fecal samples were collected from 66 dogs attended at the medical clinic, from which *E. coli* was isolated from 54 samples. A questionnaire was also applied to the tutors with questions related to information about the animals and basic sanitation conditions in their homes. These 54 strains were tested in PCR for some of the main genes of intestinal pathogenic *E. coli*: *eae*, F41, K99, LT-1, LT-2, STa, STb, Stx1 and Stx2. The antibiogram of these strains was performed to test sensitivity to the following antibiotics: amoxicillin, amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin, ampicillin/sulbactam, aztreonam, cephalexin, cefepime, ceftizoxime, ceftriaxone, enrofloxacin, gentamicin, imipenem, marbofloxacin, meropenem, sulfazotrim, sulfonamides, tetracycline and tobramycin. Five samples were positive for the presence of the intimin gene (*eae*) (9.3%), which characterizes these strains as enteropathogenic. For the other genes, the results were negative. There was a correlation between dogs with *E. coli eae+* isolates and poor basic sanitation conditions in their homes, as it was identified that of the four homes that had rudimentary pits for wastewater disposal, animals with these enteropathogenic strains were identified in two, which can also pose a risk of groundwater contamination. Antimicrobial multiresistance was widely detected in most of the isolates, with penicillin antibiotics associated with β -lactamase inhibitors and fluoroquinolones as those with the highest sensitivity, but still with a significant number of resistant strains. Investigation into the occurrence of *E. coli*, including the emergence of new pathogenic and antimicrobial resistant strains, prevention and control must be continuous and have the concept of one health as central in these approaches, given the complexity of factors that determine this occurrence, with humans, animals and the environment as fundamental pieces for a better understanding and decision-making.

Key words: *Escherichia coli*, antimicrobial resistance, intestinal infection, dogs, basic sanitation

LISTA DE ABREVIACÕES

- AFF - fimbrias de aderência agregativa
- APEC - *E. coli* patogênica para aves
- CNF - fator necrotizante citotóxico
- DAEC - *E. coli* difusamente aderente
- EAEC - *E. coli* enteroagregativa
- EHEC - *E. coli* enterohemorrágica
- EIEC - *E. coli* enteroinvasiva
- EPEC - *E. coli* enteropatogênica
- ESBL - enzima β -lactamase de espectro estendido
- ETEC - *E. coli* enterotoxigênica
- ExPEC - *E. coli* patogênica extraintestinal
- GMP - guanosina monofosfato
- GTP - guanosina trifosfato
- InPEC - *E. coli* patogênica intestinal
- ITU - infecção do trato urinário
- LEE - locus de apagamento de enterócitos
- LPF - fimbrias polares longas
- LPS – lipopolissacarídeo
- LT - enterotoxina termolábil
- NMEC - *E. coli* associada à meningite neonatal
- ST – enterotoxina termoestável
- STEC - *E. coli* produtora de toxina Shiga
- Stx – toxina Shiga
- SUH - síndrome urêmica hemolítica
- T2SS - sistema de secreção tipo II
- T3SS - sistema de secreção tipo III
- TNF - fator de necrose tumoral
- UPEC - *E. coli* uropatogênica

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. FAMÍLIA ENTEROBACTERIACEAE E GÊNERO ESCHERICHIA	3
2.2. <i>ESCHERICHIA COLI</i>	5
2.3. <i>ESCHERICHIA COLI</i> PATOGÊNICA	6
2.4. <i>ESCHERICHIA COLI</i> ENTEROPATOGÊNICA (EPEC)	10
2.5. <i>ESCHERICHIA COLI</i> PRODUTORA DA TOXINA SHIGA (STEC) E ÊNTERO- HEMORRÁGICA (EHEC)	11
2.6. <i>ESCHERICHIA COLI</i> ENTEROTOXIGÊNICA (ETEC).....	13
2.7. <i>ESCHERICHIA COLI</i> ENTEROAGREGATIVA (EAEC).....	15
2.8. <i>ESCHERICHIA COLI</i> INVASIVA ADERENTE (AIEC)	15
2.9. <i>ESCHERICHIA COLI</i> ENTEROINVASIVA (EIEC).....	16
2.10. <i>ESCHERICHIA COLI</i> DIFUSAMENTE ADERENTE (DAEC)	16
2.11. <i>ESCHERICHIA COLI</i> PATOGÊNICAS EXTRAINTestinaIS (EXPEC)	17
2.12. <i>ESCHERICHIA COLI</i> HÍBRIDA	18
2.13. DIAGNÓSTICO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i>	19
2.14. RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE <i>ESCHERICHIA COLI</i>	20
2.15. <i>ESCHERICHIA COLI</i> E MEIO AMBIENTE	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5. CONCLUSÃO	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
7. ANEXOS.....	46

1. INTRODUÇÃO

As bactérias da espécie *Escherichia coli* são comensais e têm importante função no trato intestinal dos animais de sangue quente, sendo um dos primeiros colonizadores bacterianos a partir do nascimento e desenvolvendo funções fundamentais para a manutenção de uma microbiota intestinal saudável (SUVARNA *et al.*, 1998; MUELLER *et al.*, 2015; BLOUNT, 2015; RICHTER *et al.*, 2018; MARTINSON & WALK, 2020).

Contrapondo a importância dessas bactérias comensais na saúde de seus hospedeiros, existe uma diversidade de cepas patogênicas de *E. coli* que podem causar grande prejuízo para a saúde dos animais, ocasionando infecções intestinais manifestadas por diarreia, sobretudo, mas também podendo causar doenças extraintestinais, como infecções do trato urinário. A alta plasticidade genômica desse microrganismo através da transferência horizontal de genes por plasmídeos, bacteriófagos, transposons e integrons favorece a transferência de genes de virulência e de resistência antimicrobiana (CROXEN *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2020).

A *E. coli* patogênica vem, cada vez mais, causando impactos na saúde global. A importância desse agente etiológico para a saúde única se deve a fatores como a sua crescente multirresistência à antibióticos, por ser uma das principais causas de surtos de doenças transmitidas por alimentos, pelo fato ter uma diversidade de animais como reservatórios e alto potencial zoonótico e pela sua importância como agente contaminante do ambiente, sendo causador de doenças ligadas ao déficit de saneamento básico.

Esse microrganismo é comumente isolado de infecções caninas, e devido as similaridades genotípicas entre os isolados de *E. coli* de cães e humanos e a proximidade cada vez maior entre essas espécies, a caracterização desses isolados, seu potencial zoonótico e seu impacto geral para a saúde única deve ser mais investigado.

A fim de se identificar possíveis cepas de *E. coli* patogênicas intestinais e resistentes a antibióticos em cães, foram coletadas amostras de fezes por *swab* retal de cães atendidos na clínica médica do Hospital Veterinário da Universidade de Brasília. A partir dos isolados de *E. coli* dessas amostras, foram feitos exames de PCR para a identificação de alguns genes de virulência relacionados a cepas patogênicas intestinais e antibiograma para testar a sensibilidade desses isolados a uma gama de antibióticos. Juntamente com a coleta, foram

aplicados questionários com os tutores referentes a informações dos animais e sobre o saneamento básico do território de moradia.

O objetivo do trabalho foi identificar cepas de *E. coli* patogênicas intestinais, correlacionando essa informação com as condições de saneamento básico no local de moradia do animal, e descrever a sensibilidade antimicrobiana dessas cepas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. FAMÍLIA ENTEROBACTERIACEAE E GÊNERO ESCHERICHIA

Escherichia coli é uma das espécies de bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, a qual integra dezenas de gêneros e mais de 200 espécies e subespécies identificadas até o momento. Essas bactérias se caracterizam por serem de formato bacilar, gram-negativas, não formadoras de esporos ou cistos, anaeróbicas facultativas, catalase-positivas, oxidase-negativas, não álcool-ácido resistentes, quimiorganotróficas e não halofílicas. Geralmente as enterobactérias são comensais do sistema digestivo dos animais e contaminantes de solo, vegetação e água (BRENNER & FARMER, 2015; MOXLEY, 2017; QUINN, 2018).

Além da *E. coli*, outras enterobactérias de importância clínica para animais são algumas espécies dos gêneros *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *Salmonella* sp., *Serratia* sp., *Shigella* sp., *Yersinia* sp., entre outras. Morfologicamente, os microrganismos da família Enterobacteriaceae são indistinguíveis entre si. A maior parte deles compartilham alguns produtos celulares de importância médica, como endotoxinas e sideróforos (MOXLEY, 2017; QUINN, 2018).

Esses microrganismos são sensíveis ao dessecamento, luz solar, pasteurização e a desinfetantes compostos por amônio quaternário, cloro e fenol. Em ambientes úmidos e sombreados, como caixa de excreta, estrume e pastagens podem resistir por semanas até meses. Costumam ser susceptíveis a antibióticos de amplo espectro, porém essa susceptibilidade pode ser rapidamente alterada pela aquisição de plasmídeos de resistência ou genes de DNA codificadores de resistência (MOXLEY, 2017).

A membrana externa das bactérias gram-negativas, incluído as da família Enterobacteriaceae, é composta predominantemente por lipopolissacarídeo (LPS ou endotoxina), que desempenha uma diversidade de funções biológicas e pode constituir fatores de virulência e de sensibilidade a agentes antibióticos. O LPS possui, entre suas regiões estruturais, o lipídeo A, porção hidrofóbica que fica incorporada na membrana bacteriana e é o componente ativo da endotoxina, e o antígeno O, que é a porção hidrofílica polissacarídica mais externa, que se estende a partir da superfície bacteriana (KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017).

O antígeno O é constituído de repetidas unidades de oligossacarídeos (unidades O) e é a estrutura mais diversificada devido as variações em sua forma estrutural, da composição dos açúcares e dos diferentes tipos de ligações em cada unidade O e entre essas unidades. Essas diferenças antigênicas da membrana externa das paredes celulares classificam sorologicamente as bactérias em uma diversidade de sorogrupos a partir dos diferentes antígenos somáticos O. Além disso diferenças em antígenos flagelares (H) determinam classificações, também específicas, em sorotipos. Alguns antígenos O são ainda classificados em subgrupos, como O9 e O9a, ou O18ab e O18ac. Cepas que produzem cápsula também podem ser identificadas pelo antígeno K (exemplos: O55:K5:H21, O157:H7, etc.) (KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017; QUINN, 2018; LIU et al., 2020).

A patogenicidade desses microrganismos vai depender, principalmente, da presença de fatores de virulência tais como adesinas, toxinas, sideróforos, cápsulas, etc. As espécies de importância clínica estão envolvidas na ocorrência de uma variedade de doenças em animais, incluindo humanos, como doenças diarreicas mais comumente e também doenças respiratórias, septicemia, infecções do trato urinário, meningite, etc. Esses agentes infecciosos podem se comportar como patógenos primários ou oportunistas. As enterobactérias também estão frequentemente implicadas em doenças transmitidas por veiculação hídrica ou por alimentos, como a *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Yersinia enterocolitica* (BRENNER & FARMER, 2015; KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017).

Três espécies estão estabelecidas como pertencentes ao gênero *Escherichia* spp. são elas *E. coli*, *E. albertii* e *E. fergusonii* (GANGIREDLA et al., 2018; DENAMUR et al., 2020). Algumas bactérias inicialmente classificadas como sendo do gênero *Escherichia* spp. passam por um processo de reclassificação a partir de estudos genéticos mais aprofundados, como a *E. adecarboxylata*, *E. blattae*, *E. hermannii* e *E. vulneris* (TAMURA et al., 1986; PRIEST & BARKER, 2010; HATA et al., 2016; ALNAJAR & GUPTA, 2017).

A bactéria *E. albertii* é um patógeno zoonótico emergente de origem alimentar, transmitido principalmente por consumo de produtos à base de aves, que causa diarreia sobretudo em crianças e pessoas imunocomprometidas (MUCHAAMBA et al, 2022). Pelo fato de não possuir um protocolo padronizado de isolamento e identificação, muitas vezes ela é erroneamente identificada como *E. coli* ou outros enteropatógenos, como *Shigella boydii* e *Yersinia ruckeri*, e por esse motivo ainda há poucas informações sobre sua relevância clínica, características epidemiológicas, etc. (GOMES, T. et al, 2020; MUCHAAMBA et al, 2022).

Já a espécie *E. fergusonii* está implicada em casos de gastroenterite em animais, inclusive humanos, e infecções urinárias em humanos, sendo motivo de preocupação pela resistência a antibióticos de algumas cepas identificadas e por conter fatores de virulência quase idênticos aos da *E. coli* (GAASTRA et al, 2014).

2.2. ESCHERICHIA COLI

A *E. coli* foi descrita pela primeira vez pelo pediatra alemão Theodor Escherich em 1885, sendo denominada na época de *Bacillus coli comune*, já que foi identificada naturalmente na microbiota intestinal de crianças saudáveis (ESCHERICH, 1885). O nome *Escherichia coli* foi proposto em 1919 por Castellani e Chalmers, como homenagem ao seu descobridor (CASTELLANI & CHALMERS, 1919). A classificação antigênica da *E. coli* começou a ser melhor estabelecida a partir de 1950, com os estudos de sorotipagem desenvolvidos pelo cientista dinamarquês Fritz Kauffmann (KAUFFMANN & DUPONT, 1950).

Uma diversidade de cepas de *E. coli* são naturalmente encontradas na mucosa das células epiteliais dos vertebrados e eliminadas junto com os componentes degradados de muco do lúmen intestinal que são excretados nas fezes (POULSEN *et al.*, 1994; FOSTER-NYARKO & PALLEN, 2022). No intestino infantil é um dos primeiros colonizadores bacterianos. Nas fezes humanas são encontradas em torno de 10^2 - 10^9 unidades formadoras de colônias dessa bactéria, já nos animais domésticos existem em torno de 10^4 - 10^6 unidades formadoras de colônias (SLANETZ & BARTLEY, 1957; BETTELHEIM *et al.*, 1972; MITSUOKA *et al.*, 1976; PENDERS *et al.*, 2006).

Por ser anaeróbio facultativo, provavelmente a sua capacidade de utilizar oxigênio favorece a colonização das bactérias anaeróbias estritas no desenvolvimento da microbiota intestinal durante a infância (MUELLER *et al.*, 2015). Além disso, a *E. coli* está relacionada com a síntese de vitamina K e com o controle da colonização por patógenos intestinais, pois compete por nutrientes, existindo então uma relação não só comensal, mas também mutualística com seu hospedeiro animal (SUVARNA *et al.*, 1998; BLOUNT, 2015; RICHTER *et al.*, 2018; MARTINSON & WALK, 2020).

Com requisitos pouco exigentes para o seu rápido crescimento em laboratório, além de uma fácil manipulação genética e versatilidade metabólica, a *E. coli*, particularmente a cepa K-12, se tornou o microrganismo modelo para vários estudos científicos até os dias de hoje. Sua contribuição vai desde a elucidação do código genético e de processos como a replicação e transcrição, até para a síntese de proteínas recombinantes como a insulina e vários outros biofármacos (HOBMAN *et al.*, 2007; FOSTER-NYARKO & PALLEN, 2022). Atualmente já foram identificadas as estruturas de aproximadamente 197 antígenos O de *E. coli*, incluindo 21 subgrupos (LIU *et al.*, 2020). Quanto aos antígenos H e K, já foram identificados ao menos 53 e 67 tipos, respectivamente (DENAMUR *et al.*, 2020).

O genoma da *E. coli* é formado por um cromossomo circular e plasmídeos, com tamanhos que variam de 4,2 a 6,0 Mbp nos diferentes filogrupos, sendo essa variabilidade resultante das aquisições e deleções frequente de fragmentos de DNA, sendo que cerca de 2.000 genes são compartilhados entre todas as cepas (RASKO *et al.*, 2008; TOUCHON *et al.*, 2020). A maioria dos isolados possuem de dois a quatro plasmídeos relacionados a cada cepa de *E. coli*, com tamanhos menores de 30 kbp até 300 kbp. Já foram identificados pelo menos oito diferentes grupos filogenéticos incluídos nas espécies de *E. coli*, denominados A, B1, B2, C, D, E, F e G (SMILLIE *et al.*, 2010; BRANGER *et al.*, 2018; DENAMUR *et al.*, 2020).

2.3. *ESCHERICHIA COLI* PATOGÊNICA

A primeira suspeita de que este microrganismo poderia ocasionar doenças infecciosas foi levantada pelo pediatra alemão Alfred Adam na década de 1920, ao relacionar que certos grupos fermentativos desse espécime de bactéria, denominados na época como *Dyspepsie-Coli*, possivelmente estariam relacionados com casos de dispepsia em crianças. (ADAM, 1923). Em 1945, por meio de métodos sorológicos mais específicos, John Bray confirmou que esses sorotipos de *E. coli* estavam causando diarreia e mortalidade infantil em outros países da Europa (BRAY, 1945, 1949).

Há clones dessa bactéria reconhecidamente patogênicos, embora mesmo os clones comensais possam causar doença, ainda que em menor frequência, principalmente em hospedeiros imunocomprometidos ou com as barreiras gastrointestinais fragilizadas por algum

motivo, além da possibilidade dessas cepas comensais adquirirem fatores de virulência ao se estabelecerem em nichos patogênicos (KAPER *et al.*, 2004). A própria diversidade de cepas de *E. coli* presentes no intestino, pode favorecer a transferência horizontal ativa de fatores de virulência entre as cepas (FOSTER-NYARKO & PALLEN, 2022).

O primeiro passo para o estabelecimento de uma infecção por *E. coli* é sua aderência ao epitélio, geralmente mediada por adesinas localizadas nas fimbrias. A produção de toxinas tem um papel relevante na patogenicidade de algumas cepas (KOENIG, 2015). A transferência horizontal de genes através de elementos genéticos móveis como transposons, bacteriófagos, plasmídeos e integrons pode favorecer a virulência de cepas, a transferência de genes de resistência antimicrobiana, a adaptação em diferentes hospedeiros e a manutenção no ambiente (CROXEN *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2020).

As cepas de *E. coli* patogênicas são transmitidas via fecal-oral, podendo ocorrer por meio de contato direto entre os animais colonizados, contaminação de alimentos e de águas de irrigação ou potável/recreativa. A contaminação de alimentos pode ocorrer devido más práticas de preparo, como cozimento inadequado, carnes cruas em contato com outros alimentos e má higiene das mãos ao manipular alimentos (CROXEN *et al.*, 2013).

Esse microrganismo é comumente isolado de infecções intestinais e extraintestinais, podendo inclusive ser a etiologia de epidemias, como o grave surto de origem alimentar ocorrido na Alemanha em 2011, que resultou em cerca de 4 mil infecções com aproximadamente 900 casos de síndrome hemolítico-urêmica e 54 óbitos, ocasionado por uma cepa híbrida EHEC-EAEC, sorotipo O104:H4 (KARCH *et al.* 2012; DENAMUR *et al.* 2020).

Os patótipos ou patovares, cepas patogênicas de *E. coli*, são identificadas por meio de siglas que caracterizam esses patótipos de alguma forma, como quanto ao órgão alvo de patogenicidade (exemplo: *E. coli* uropatogênica – UPEC), o hospedeiro infectado (ex.: *E. coli* patogênica para aves – APEC), presença de determinados genes (ex.: gene *stx* de *E. coli* produtora de toxina Shiga – STEC), entre outras características (DENAMUR *et al.*, 2020).

As cepas causadoras de doenças no trato intestinal, definidas como *E. coli* diarreio gênicas ou *E. coli* patogênica intestinal (InPEC), são os seguintes patótipos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* difusamente aderente (DAEC) e *E. coli* invasiva aderente (AIEC). Quanto as *E. coli* patogênicas extraintestinais (ExPEC),

algumas de importância clínica são as *E. coli* uropatogênica (UPEC), *E. coli* associada à meningite neonatal (NMEC) e a *E. coli* patogênica aviária (APEC) (KAPER *et al.*, 2004; GOMES *et al.*, 2016; DENAMUR *et al.* 2020). Na Tabela 1 e nos próximos subtítulos, são apresentadas algumas características dos principais patótipos de *E. coli*.

Tabela 1 - Patótipos mais comuns de *Escherichia coli* e principais características.

Patótipo	Base de definição	Hospedeiros principais	Genes de virulência	Antecedentes filogenéticos	Sorotipos principais
ExPEC	Infecção não intestinal, genes específicos, modelo animal	Humanos, mamíferos domésticos, aves	Genes que codificam adesinas, toxinas, protectinas e sistemas de captura de ferro	B2	O16:H5, O25:H4
					O2:H1, O6:H1
					O1/O2/O18/O45:K
					1:H7, O2:K1:H4
					O4:H1/H5
				D	O17/O73/O77:H18
				C	O8/O9:H4/H9/H19, O78:H4
				F	O7:K1:H45
UPEC	Isolado da urina	Humanos, mamíferos domésticos	<i>papGII</i> , <i>papGIII</i>	B2	Idem ExPEC
				F	O1:K1:H7, O7:K1:H45
NMEC	Isolado líquido cefalorraquidiano de neonatos	Humanos	Genes que codificam o antígeno K1, genes pS88	B2	Idem ExPEC
				F	O1:K1:H7, O7:K1:H45
<i>E. coli</i> associada à pneumonia	Isolado do pulmão	Humanos	<i>hly</i> , <i>sfa</i>	B2	Idem ExPEC, O6:H31, O2:K1:H6
APEC	Isolado de pássaros	Aves	genes pColV	B2	Idem ExPEC
				C	O8/O78:H4/H9/H19
				G	Múltiplo: H4

InPEC	Doença diarreica	Humanos, mamíferos domésticos	Vários	Todos os filogrupos	Numerosos
STEC e/ou EHEC	Genes <i>stx</i>	Humano, gado, ovelha	<i>stx, eae, ehx</i> <i>A</i>	E B1	O157:H7 O26:H11/H ⁻ , O111:H8/H ⁻ , O45/O103:H2
EPEC	Lesões em células epiteliais intestinais	Humanos, mamíferos domésticos	<i>eae, bfp</i>	A B1 B2 E	Variável, O variável:H40 O103/O111/O114/ O126/O128:H2, O88:H25, O128/O153/O?:H7 O55/O127/O142:H 6, O85:H31, O33/O119:H6, O55/O76:H51, O33/O142:H34 O55:H7, O145:H28
ETEC	Enterotoxinas termoestáveis e termolábeis	Humano, porco, gado	Genes que codificam enterotoxinas e fatores de colonização	A, B1, C, E	Numerosos
EIEC	Invasão de colonócitos	Estritamente humano	<i>ipa, isc, vir</i> Inactivation of <i>nadA, nad</i> <i>B</i> and <i>cadA</i>	A B1 E	O124:H30 O164:H7 O143:H26
EAEC	Adesão agregativa em enterócitos	Humanos, mamíferos domésticos	Fímbrias de adesão agregativa (<i>aaf/agg</i>) e genes transcricionai s (<i>aggR</i>)	A, B1, B2, D	Numerosos

DAEC	Adesão difusa nos enterócitos	Humanos	Genes que codificam adesinas (<i>afa</i> e <i>dra</i>)	Todos os filogrupos	Numerosos
AIEC	Adesão e invasão de células epiteliais intestinais	Humanos	Não conhecido	Todos os filogrupos, com uma maioria de B2	O83:H1, sorotipos ExPEC
Híbrido InPEC	Características de EHEC e EAEC	Humanos	<i>stx</i> , <i>aggABC</i> <i>D</i> , <i>aggR</i>	B1	O104:H4
Híbrido InPEC-ExPEC	Síndrome hemolítica urêmica e septicemia	Humano, bovino	<i>stx</i> , <i>eae</i> , pS88 genes	A	O80:H2

Legenda: AIEC - *E. coli* aderente-invasiva; APEC - *E. coli* patogénica aviária; DAEC - *E. coli* difusamente aderente; EAEC - *E. coli* enteroagregativa; EHEC - *E. coli* enterohemorrágica; EIEC - *E. coli* enteroinvasiva; EPEC - *E. coli* enteropatogênica; ETEC - *E. coli* enterotoxigênica; ExPEC - *E. coli* patogênica extra-intestinal; InPEC - *E. coli* patogênica intestinal; NMEC - meningite neonatal por *E. coli*; STEC - *E. coli* produtora de toxina Shiga; UPEC - *E. coli* uropatogênica.

Fonte: DENAMUR et al., 2020

2.4. *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATOGÊNICA (EPEC)

A *E. coli* enteropatogênica (EPEC) foi o primeiro patovar de *E. coli* diarreio gênica identificado. Pode estar presente nas fezes de praticamente todas as espécies animais, sendo um dos principais microrganismos envolvidos em diarreias de crianças no mundo e mortalidade infantil em países em desenvolvimento (PEARSON et al., 2016; TROEGER et al., 2018). Ela é definida, a partir dos seus fatores de virulência, pela possibilidade de produzir lesões de aderência e apagamento/achatamento e incapacidade de produção de toxinas Shiga,

enterotoxinas termoestáveis (ST) ou enterotoxinas termolábeis (LT) (HAZEN *et al.*, 2016; GOMES *et al.*, 2016).

Esse patótipo causa lesões de aderência/achatamento (achatamento de microvilosidades epiteliais com fixação à membrana plasmática apical) nos intestinos delgado e grosso. O locus de apagamento de enterócitos (LEE – *locus of enterocyte effacement*), possui genes que sintetizam a intimina (*eae*) e genes que codificam o sistema de secreção tipo III (T3SS), que possibilita a translocação de efetores que prejudicam as funções das células hospedeiras, como o receptor de intimina (*tir – translocation of intimin receptor*), que rearranjam o citoesqueleto propiciando suportes de fixação em forma de pedestais de actina filamentosos para essas bactérias, e conseqüentemente colonização. Outros efetores prejudicam as funções dos enterócitos em diversos aspectos, como na modulação da resposta imune e favorecimento da morte celular (KOENIG, 2015; PEARSON *et al.*, 2016; MOXLEY, 2017).

As cepas de EPEC são classificadas ainda como típicas - tEPEC ou atípicas - aEPEC por apresentarem ou não um plasmídeo com o gene *bfp*, respectivamente. Esse gene codifica fímbrias que formam “feixes” que atuam como mediadores de aderência local nos enterócitos. (GOMES *et al.*, 2016; MOXLEY, 2017) Cepas de EPEC, principalmente as atípicas, são frequentemente isoladas de uma diversidade de espécies animais, doentes e saudáveis de muitos países, inclusive compartilhando os mesmos tipos de sequências gênicas e sorotipos entre humanos e animais domésticos, demonstrando seu potencial zoonótico (MOURA *et al.*, 2009; ASKARI *et al.*, 2020; BERALDO *et al.*, 2023).

Clinicamente, a EPEC causa diarreia aquosa aguda, mas há casos de quadros persistentes e de portadores assintomáticos. Ela é frequentemente isolada de infecções intestinais mistas (KOENIG, 2015; MARE *et al.*, 2021).

2.5. ESCHERICHIA COLI PRODUTORA DA TOXINA SHIGA (STEC) E ÊNTERO-HEMORRÁGICA (EHEC)

Existem vários sorotipos de *E. coli* produtoras de toxina Shiga (STEC), porém nem todas são patogênicas. As cepas de *E. coli* êntero-hemorrágica (EHEC) são de alta virulência, pois

além de produzirem lesões de aderência/achatamento, também são STEC, ou seja, produzem a toxina Shiga (Stx). A ligação íntima de EHEC nos enterócitos ocorre pelo mesmo mecanismo do LEE das cepas de EPEC, mas com maior quantidade de efetores (KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017; DENAMUR *et al.*, 2020). Para as cepas de STEC LEE-negativas, podem haver outros mecanismos de colonização, como fímbrias polares longas (LPF) (GALLI *et al.*, 2010).

A toxina produzida pela STEC é estreitamente relacionada com a toxina Shiga da *Shigella dysenteriae* sorotipo 1 (MOXLEY, 2017). Há dois tipos antigênicos da toxina Shiga - Stx1 e Stx2, que também são conhecidas como verocitotoxinas - VT-I e VT-II (KOENIG, 2015). Até o momento existem três subtipos de Stx1 (a, c e d) e sete de Stx2 (a, b, c, d, e, f e g) para STEC estabelecidos, porém novos subtipos vêm sendo descobertos, como os subtipos de Stx2h a Stx2m (BAI *et al.*, 2021). A Stx2, especialmente o subtipo Stx2a, parece ser mais potente que a Stx1 por estar relacionada a casos clínicos mais graves (LENTZ *et al.*, 2011; PRADHAN *et al.*, 2016; DENAMUR *et al.*, 2020)

Os genes da toxina Shiga são abrigados em fagos e a liberação dessas toxinas ocorre em resposta ao estresse e lise bacteriana, fazendo com que esses fagos tomem a forma replicante citosólica (ciclo lítico). Por isso o tratamento com alguns antibióticos, como quinolonas, é contraindicado nesses casos pois pode favorecer o processo supracitado, resultando em mais lise bacteriana e maior expressão da Stx (KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017).

A configuração molecular de Stx é AB₅. A subunidade A é ativa enzimaticamente, mediadora da atividade tóxica após a endocitose, e é ligada covalentemente a cinco subunidades B, que se ligam ao receptor da célula hospedeira glicosíngolípido neutro globotriaosilceramida - Gb₃, também denominado CD77 (com exceção da Stx2e – causadora da doença do edema em suínos, que se liga ao Gb₄). Os Gb₃s se encontram na mucosa intestinal e em outras células, como nas células epiteliais renais. Os bovinos, que são considerados hospedeiros reservatórios de STEC, carecem de receptor Gb₃. Nas células, a subunidade A interfere na síntese de proteínas pelo RNA ribossômico, causando morte celular (KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017).

Os humanos são muito susceptíveis aos efeitos da Stx, que pode ocasionar diarreia e complicações como colite hemorrágica, síndrome urêmica hemolítica (SUH) e anormalidades no sistema nervoso central. O sorotipo EHEC O157:H7 é o principal relacionado a surtos alimentares, principalmente por carne bovina malcozida e água contaminada, em países da

América do Norte, Europa e Japão (KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017; KIM *et al.*, 2020). No Brasil, embora haja baixa incidência dessa infecção em humanos, cepas STEC, inclusive O157:H7, são relatadas em animais, alimentos e água nos estados brasileiros (CALDORIN *et al.*, 2013).

Além dos ruminantes, principais reservatórios de STEC, esses microrganismos já foram relatados em um grande número de espécies animais, ressaltando o potencial zoonótico desse patógeno (KIM *et al.*, 2020). Cães e gatos podem ser eliminadores assintomáticos de cepas STEC e fontes de infecções para humanos (BUSCH *et al.*, 2007; HOGG *et al.*, 2009; RUMI *et al.*, 2012; KOENIG, 2015; MCFARLAND *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2020).

A doença do edema em suínos é causada por cepas STEC que carregam o a toxina Stx2e, o que leva a uma enterotoxemia aguda em leitões desmamados caracterizada clinicamente em edema subcutâneo e subseroso e sintomas neurológicos. Geralmente essas cepas expressam α -hemolisina e fímbrias F18ab. Ao ser absorvida no intestino, Stx2e se liga predominantemente aos receptores Gb4 dos eritrócitos, que liberam a toxina nas células endoteliais que também expressam esses receptores (MOXLEY, 2017).

2.6. *ESCHERICHIA COLI* ENTEROTOXIGÊNICA (ETEC)

A *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) é uma das causas mais comuns de mortalidade infantil por diarreia em países em desenvolvimento e de diarreia do viajante (KHALIL *et al.*, 2016; LEUNG *et al.*, 2019). Na saúde animal o maior impacto é na produção de suínos, visto que leitões recém-desmamados são muito suscetíveis à infecção (KOENIG, 2015). Essas cepas se caracterizam por produzirem enterotoxinas termoestável (ST) e/ou termolábil (LT). A ST é resistente em temperatura de 100°C por 15 minutos e a LT é sensível a temperatura de 70°C por 10 minutos. As células epiteliais suscetíveis a ação das enterotoxinas da ETEC são as do jejuno e íleo (MOXLEY, 2017).

As ETEC também produzem fatores de colonização, estruturas de superfície que podem ser fimbriais, não-fimbriais, fibrilares ou helicoidais que mediam a ligação inicial da ETEC no epitélio intestinal do hospedeiro (CROXEN & FINLAY, 2010; DENAMUR *et al.*, 2020). Nos

animais, as cepas de ETEC que costumam causar colibacilose entérica apresentam fatores de colonização F4, F5 (K99), F6, F18ac ou F41, que são adesinas fimbriais (MOXLEY, 2017).

Através de um sistema de secreção de proteína (T2SS), a LT é liberada do interior da ETEC para se ligar a sua superfície externa de LPS e posterior ligação nas células do hospedeiro animal. Essa toxina possui alto peso molecular, estruturalmente e funcionalmente é semelhante a toxina da cólera, tem configuração molecular AB₅ e é subdividida em tipos I e II de acordo com características antigênicas. Sua subunidade A serve como componente catalítico e as subunidades B como componentes de ligação aos receptores glicoconjugados nos epitélios, principalmente o G_{MI}. A subunidade A é ainda dividida em dois domínios unidos por uma ponte dissulfeto: a cadeia A1 é enzimaticamente ativa e a cadeia A2 é uma ligação não covalente entre a cadeia A1 e a subunidade B, além de ter função na penetração celular e no transporte de proteínas (CROXEN & FINLAY, 2010; MOXLEY, 2017; ZHANG *et al.*, 2022).

No citosol da célula infectada, a subunidade A1 da LT interfere na função da proteína G levando a um aumento da adenosina monofosfato cíclica (AMPC), ativando a proteína quinase A e levando a abertura do regulador de condutância transmembrana da fibrose cística (CFTR), resultando na secreção excessiva de eletrólitos e água devido aumento da pressão osmótica no lúmen intestinal, o que se manifesta clinicamente em diarreia. Outros mecanismos que a LT utiliza para ocasionar diarreia secretora é pelo estímulo da síntese de prostaglandina E e do fator de ativação plaquetária e também pela estimulação do sistema nervoso entérico (CROXEN & FINLAY, 2010; MOXLEY, 2017; ZHANG *et al.*, 2022).

A ST é um polipeptídeo pequeno não imunogênico classificado em STa e STb, de acordo com suas características estruturais e de função. Nos enterócitos de várias espécies animais a STa é ativa e possui uma estrutura de aminoácidos semelhante à guanilina, se ligando ao mesmo receptor desse peptídeo nas células apicais do epitélio intestinal, a guanilil ciclase C (GC-C), após ser secretada da ETEC por meio de proteínas de efluxo de sua membrana externa. A ligação no GC-C ativa a conversão do guanosina trifosfato (GTP) em 3'5'-monofosfato cíclico (cGMP). O acúmulo de cGMP ativa a proteinoquinase G que gera a fosforilação do CFTR, abrindo o canal iônico provocando secreção de Cl⁻ e acúmulo de Na⁺, aumentando a pressão osmótica no lúmen intestinal e acumulando água, o que se manifesta clinicamente em diarreia (CROXEN & FINLAY, 2010; MOXLEY, 2017; ZHANG *et al.*, 2022).

O receptor para STb nos enterócitos é o sulfatido. No interior da célula, a STb vai ativar uma proteína reguladora de ligação ao GTP sensível à toxina da coqueluche, resultando em um

influxo de Ca^{2+} . Com o acúmulo de cálcio intracelular, haverá a ativação de outras proteínas envolvidas na abertura de outros canais de íons, levando à alteração osmótica no lúmen intestinas e conseqüentemente à diarreia. Essa enterotoxina está mais relacionada à diarreia em leitões recém desmamados (MOXLEY, 2017; BUTT *et al.*, 2020).

2.7. *ESCHERICHIA COLI* ENTEROAGREGATIVA (EAEC)

A EAEC é um patógeno humano emergente que também é uma causa comum de diarreia do viajante. Essa bactéria expressa fimbrias de aderência agregativa (AFF) por meio de plasmídeos e ao se multiplicarem, aderem à superfície das células do intestino delgado e grosso do hospedeiro de uma forma agregada como uma “pilha de tijolos”, lesionando a mucosa com a secreção de citotoxinas. São formados biofilmes na superfície dos enterócitos cobertos por uma camada de muco (CROXEN & FINLAY, 2010; KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017).

Esse microrganismo aparentemente não possui relevância para a saúde animal. Cepas de EAEC têm sido isoladas de animais domésticos, como leitões, bezerros e cães com ou sem diarreia, porém não costumam ser encontrados os fatores de virulência presentes nas cepas de humanos (UBER *et al.*, 2006; VIJAY *et al.*, 2014; KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017).

2.8. *ESCHERICHIA COLI* INVASIVA ADERENTE (AIEC)

A AIEC tem sido associada às doenças inflamatórias intestinais humanas, como a doença de Crohn (NADALIAN *et al.*, 2020; KITTANA *et al.*, 2023) e à colite ulcerativa histiocítica (granulomatosa) em cães, principalmente da raça boxer, com um caso recentemente associado da doença em um gato (SIMPSON *et al.*, 2006; MANSFIELD *et al.*, 2009; KOENIG, 2015; TUOMISTO *et al.*, 2023).

No íleo, esse microrganismo adere à molécula de adesão celular relacionada ao antígeno carcinoembrionário 6 (CEACAM6), que é superexpresso em pacientes com doença de Crohn.

Essa aderência estimula o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e o interferon-gama (IFN- γ), promovendo inflamação e mais expressão de CEACAM6, e conseqüentemente mais aderência da AIEC. Na lâmina própria, essas bactérias seriam engolfadas por macrófagos e a replicação contínua resultaria na formação de grandes quantidades de TNF- α e granulomas (MARTINEZ-MEDINA & GARCIA-GIL, 2014; KOENIG, 2015).

2.9. *ESCHERICHIA COLI* ENTEROINVASIVA (EIEC)

A EIEC e a *Shigella* spp. causam a mesma patogenia estrita a humanos, conhecida como disenteria bacilar, sendo que a EIEC possui menor virulência e quadro clínico menos grave. Essas bactérias fazem replicação intracelular após adentrarem nas células epiteliais do intestino grosso por transcitose, e possuem como principais fatores de virulência componentes do complexo T3SS, chaperonas, reguladores transcricionais, translocadores e proteínas efetoras. Invadem macrófagos e colonócitos, e seus efetores neutralizam e subvertem a defesa imunológica, facilitando a replicação e disseminação desse agente etiológico (CROXEN *et al.*, 2013; KOENIG, 2015).

2.10. *ESCHERICHIA COLI* DIFUSAMENTE ADERENTE (DAEC)

A DAEC pode causar diarreia infantil, complicações na gravidez e infecção do trato urinário (ITU), acometendo somente humanos. Essa cepa pode expressar a adesina Afa/Dr, que liga de forma difusa essa cepa aos enterócitos e a fatores de sinalização celular que desencadeiam alterações no citoesqueleto, lesões nas microvilosidades intestinais, respostas pró-inflamatórias, dentre outras alterações (SERVIN, 2014; KOENIG, 2015).

2.11. *ESCHERICHIA COLI* PATOGÊNICAS EXTRAINTESTINAIS (EXPEC)

Existem cepas de *E. coli* que podem causar infecções extraintestinais (ExPEC), como ITU, pneumonia, meningite, piometra, sepse, etc. acometendo principalmente humanos e animais domésticos. Os clones mais prevalentes de ExPEC são ST131, STc95 e STc73 (KOENIG, 2015; DENAMUR *et al.*, 2020; XAVIER *et al.*, 2022). Alguns dos patótipos incluídos no grupo de ExPEC são a *E. coli* uropatogênica (UPEC), *E. coli* patogênica aviária (APEC), *E. coli* de meningite neonatal (NMEC), *E. coli* associada à sepse (SEPEC), entre outros. Os fatores de virulência relacionados a esses patógenos podem ser vários, como a presença de determinadas adesinas, toxinas, plasmídeos, fatores de aquisição de ferro, etc. (SAROWSKA *et al.*, 2019).

A maior parte das ITUs em humanos e cães são causadas por UPEC, que pode ser proveniente da própria microbiota intestinal do hospedeiro. Essas cepas geralmente se aderem ao uroepitélio e geram uma resposta inflamatória por meio de fímbrias P ou tipo 1. A capacidade de multiplicação intracelular de algumas cepas em humanos pode explicar a característica recidivante de algumas ITUs em cães e gatos. Outros fatores de virulência relatados nessas cepas são hemolisinas, fator necrotizante citotóxico 1 (CNF1) e fatores de aquisição de ferro (KOENIG, 2015; SAROWSKA *et al.*, 2019).

A APEC é causadora da colibacilose em aves domésticas, doença que impacta negativamente a indústria aviária, podendo também causar infecções em órgãos extraintestinais e sepse nas aves. Essa cepa compartilha genes de virulência também presentes em UPEC e NMEC e potencialmente pode estar implicado em infecções humanas transmitidas por alimentos ou mesmo em transmissões zoonóticas (KATHAYAT *et al.*, 2021).

A infecção por *E. coli* capaz de se estabelecer fora do intestino em animais suscetíveis também pode ocorrer por vias como a conjuntival, pelo umbigo tratado inadequadamente ou mesmo pela ingestão. Por esta última via, essas cepas costumam se aderir e adentrar às células intestinais por meio da expressão de adesinas e fatores necrotizantes citotóxicos 1 ou 2 (CNF1, CNF2), alcançando vasos linfáticos e corrente sanguínea, podendo causar endotoxemia (MOXLEY, 2017).

2.12. *ESCHERICHIA COLI* HÍBRIDA

Após o grave surto da cepa híbrida EHEC-EAEC ocorrido na Europa em 2011, estudos vêm mostrando a emergência e o impacto de cepas híbridas de *E. coli*, que apresentam características de diferentes patótipos. A plasticidade genômica da *E. coli* favorece essa combinação de genes ligados à virulência entre os patótipos e o surgimento de novos clones com alta patogenicidade (DENAMUR *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2020).

O surto alimentar originado pela cepa EHEC-EAEC, sorotipo O104:H4, causou infecção intestinal em cerca de 4 mil pessoas na Alemanha, das quais em torno de 850 desenvolveram síndrome hemolítico-urêmica levando a cerca de 50 pessoas à óbito. Essa cepa além de produzir Stx2a e adesão do tipo EAEC, também continha fatores de virulência encontrados principalmente em ExPEC: sistemas de captura de ferro, yersinobactina e aerobactina, demonstrando a capacidade de alta virulência que essas cepas podem ter (KARCH *et al.*, 2012; DENAMUR *et al.*, 2020).

O patótipo híbrido do sorotipo O80:H2, que abriga os fatores de virulência típicos de EHEC e também o plasmídeo pS88 característico de APEC foi identificado em países europeus, causando síndrome urêmica hemolítica (SUH) e infecções invasivas. O plasmídeo pS88 desse sorotipo contém genes de resistência para penicilinas, tetraciclina, estreptomicina, cotrimoxazol e metais pesados, como mercúrio (SOYSAL *et al.*, 2016; DENAMUR *et al.*, 2020). O sorotipo também vem sendo isolado de bezerros com diarreia na Europa, possuindo estreita relação genética com os isolados humanos (DE RAUW *et al.*, 2019).

Cepas STEC-EPEC são relatadas acometendo leitões com diarreia pós-desmame e edema (CHENG *et al.*, 2006; BARTH *et al.*, 2011). Essas cepas também já foram relatadas em outros animais, alimentos e humanos com diarreia e alguns casos de SUH. Outras cepas híbridas já relatadas causando diarreia ou doenças extraintestinais em humanos e/ou outros animais foram EPEC-EPEC e ExPEC-EPEC (SANTOS *et al.*, 2020). Já foi identificadas cepas híbridas com determinantes genéticos de três patótipos diarreio gênicos em humanos: aEPEC-EPEC-DAEC (MÉNDEZ-MORENO *et al.*, 2022).

2.13. DIAGNÓSTICO DE *ESCHERICHIA COLI*

A cultura bacteriana é feita com amostras de acordo com a suspeita clínica: fezes em casos de infecção intestinal, urina em casos de infecção do trato urinário, sangue em casos de septicemia, etc. A *E. coli* cresce bem em meios de cultura habituais, sem enriquecimento. Em ágar-sangue essas bactérias se apresentam em colônias lisas circulares, algumas cepas produzem hemólise (KOENIG, 2015).

No meio seletivo para bactérias gram-negativas ágar MacConkey, essas bactérias formam colônias vermelho-escuras com precipitado róseo difuso ao redor das colônias. Nesse meio as colônias que metabolizam lactose têm cor rósea pela formação de ácidos mistos e o vermelho neutro é indicador de pH. Já no ágar EMB, essa formação de ácido a partir da fermentação de lactose formara colônias com brilho metálico (KOENIG, 2015; PROCOP *et al.*, 2018).

No exame microscópico, a *E. coli* aparecerá, assim como outras enterobactérias, como bastonetes gram-negativos de tamanho médio, que podem ser móveis (KOENIG, 2015). As reações IMViC (indol, vermelho-de-metila - VM, Voges-Proskauer – VP e citrato) e outros testes bioquímicos servem para diferenciar a *E. coli* de outras enterobactérias geralmente tendo como resultados indol, VM e catalase positivos; VP, citrato, oxidase e urease negativos e fermentação de açúcares com produção de gás em *Triple Sugar Iron* (TSI) (PROCOP *et al.*, 2018).

As formas de diferenciar as cepas de *E. coli* incluem sorotipagem, biotipagem, fagotipagem, tipagem eletroforética de enzimas, tipagem da colisina e eletroforese em gel de campo pulsado. Na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), a partir dos isolados de colônias bacterianas a identificação de cepas ocorre pela amplificação de genes de virulência, como os apresentados na Tabela 2. Pode-se fazer a diferenciação de cepas patogênicas através de testes imunológicos como o teste de aglutinação em lâmina, teste imunoenzimático (ELISA) e técnica de anticorpos fluorescentes. Exames histológicos servem para descrever lesões específicas de algumas cepas, como lesões por aderência/achatamento (KOENIG, 2015; MOXLEY, 2017).

2.14. RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI*

A multirresistência de *E. coli* a antibióticos vem sendo cada vez mais prevalente na medicina humana e animal, principalmente pela capacidade de transferência horizontal de genes de resistência entre as bactérias, o que eleva a gravidade das infecções pelas poucas alternativas de tratamento. Alguns dos fatores para isso são o uso indiscriminado de antibióticos em animais, principalmente animais de produção, e humanos; saneamento ambiental inadequado e prevenção e controle deficientes em ambientes hospitalares. Essas cepas resistentes a antibióticos vêm gerando grande impacto na saúde única, visto que a disseminação dessas bactérias em humanos e outros animais potencializa a possibilidade de transmissão via contaminação ambiental, alimentícia e zoonótica (POIREL *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2020; PORMOHAMMAD *et al.*, 2022).

As cepas que codificam genes de produção da enzima β -lactamase de espectro estendido (ESBL) e cefalosporinase superexpressas (AmpC) possuem resistência à maioria dos antibióticos β -lactâmicos, como penicilinas e cefalosporinas, e vêm sendo amplamente identificadas em animais em todo o mundo, inclusive em fezes de animais saudáveis e com compartilhamento de alguns genes entre humanos e animais (VALENTIN *et al.*, 2014; CARVALHO *et al.*, 2016; POIREL *et al.*, 2018; TOOMBS-RUANE *et al.*, 2020; BEZABIH *et al.*, 2021; PORMOHAMMAD *et al.*, 2022).

Outros importantes fatores de resistência a antibióticos que podem ser encontrados em *E. coli* isoladas de humanos e animais domésticos em diversos países são para quinolonas e fluoroquinolonas mediados pelos plasmídeos de resistência às quinolonas, resistência a carbapenêmicos mediada pela enzima carbapenemase, resistência aos aminoglicosídeos por mutações no sítio RNA 16S e resistência à polimixina mediada pelo gene *mcr*. Além disso, outros grupos de antibióticos vêm sendo relatados como sendo alvos de mecanismos de resistência de *E. coli*, como fosfomicinas, fenicóis, tetraciclinas, sulfonamidas e trimetoprim e polimixinas (POIREL *et al.*, 2018; PORMOHAMMAD *et al.*, 2022).

2.15. *ESCHERICHIA COLI* E MEIO AMBIENTE

Além de ser encontrada principalmente no trato intestinal dos animais de sangue quente, *E. coli* também pode ser encontrada amplamente distribuída no meio ambiente (JANG *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2020). A partir de estudos epidemiológicos da década de 80 que mostraram correlação entre os níveis de *E. coli* em águas recreativas e incidência de doenças gastrointestinais, o nível dessa bactéria passou a ser um indicador de contaminação fecal em águas recreativas (USEPA, 1986).

O monitoramento dessa bactéria em água para consumo humano deve ser feito de modo a se evitar a contaminação fecal e garantia de potabilidade (EDBERG *et al.*, 2000; BRASIL, 2021). Estudos já mostraram que cepas de ETEC, por exemplo, são capazes de sobreviver até 3 meses em água doce e de formar biofilmes em fontes de água potável (LOTHIGIUS *et al.*, 2010; AHMED *et al.*, 2013).

Algumas das fontes de contaminação ambiental por *E. coli* patogênica ou resistentes a antibióticos são depósitos de esterco e outros resíduos animais, águas residuais de abatedouros e efluentes de estações de tratamento de águas residuais (JANG *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2020). Em ambientes naturais como água e solo, e estações de tratamento de esgoto, podem ocorrer muitas trocas genéticas entre diferentes bactérias, sendo esses ambientes considerados reatores genéticos bacterianos (BAQUERO *et al.*, 2008).

Os genes que codificam resistência a antibióticos costumam ser elementos genéticos móveis, como integrons, tranposons e plasmídeos, e a transferência horizontal de genes entre os microrganismos pode ocorrer em ambientes naturais como água e solo. Por esses motivos, além de serem considerados como contaminantes em ambientes clínicos, os genes de resistência a antibióticos são considerados contaminantes emergentes em ambientais naturais (MARTINEZ, 2009; JANG *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2020). Em caixas de areia de parques infantis, por exemplo, já foram identificadas cepas de *E. coli* resistentes a antibióticos (BADURA *et al.*, 2014).

Os genes de *E. coli* patogênica, como *eaeA*, também são frequentemente detectados no ambiente. Os recorrentes surtos de intoxicação alimentar que ocorrem em vários países, originados principalmente de diferentes verduras contaminadas com cepas patogênicas

intestinais de *E. coli*, demonstram a persistência desses microrganismos nos vegetais (KARCH *et al.* 2012; JANG *et al.*, 2017).

3. MATERIAL E MÉTODOS

No período de junho a agosto de 2022 foram coletados, por meio de *swab* retal, a amostra de fezes de 66 cães atendidos na clínica médica do Hospital Veterinário da Universidade de Brasília, para primeira consulta ou consulta de rotina. Os tutores foram convidados e esclarecidos sobre os objetivos e procedimentos da pesquisa, e todos assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília, SEI n.º 23106.039480/2022-30.

Juntamente com a coleta, foram aplicados questionários com os tutores com perguntas referentes a informações dos animais e sobre o saneamento básico do território de moradia. As perguntas abordaram: raça, idade, sexo, alimentação, uso de antibióticos, histórico de diarreia, abastecimento de água, destinação das águas residuais, coleta de lixo, descarte de fezes e local de moradia (ANEXO A).

Após as coletas, as amostras foram identificadas e imediatamente inoculadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) para crescimento microbiológico por até 24 horas em estufa a 37°C, e posteriormente repassadas para o meio seletivo Eosina Azul de Metileno (EMB) para crescimento por mais 24 horas em estufa a 37°C. As colônias que apresentaram a morfologia indicativa de *E. coli* (colônias violetas escuras com brilho verde metálico) foram repassadas para o meio Ágar Sangue (AS) para crescimento por mais 24 horas em estufa a 37°C.

Procedeu-se também testes bioquímicos para confirmação do isolamento de *E. coli*, com catalase positivo, oxidase negativo, testes indol positivo, VM positivo, VP negativo, citrato negativo, fermentação de açúcares com produção de gás em *Triple Sugar Iron* (TSI) e urease negativo. As colônias de *E. coli* identificadas foram acondicionadas em glicerol 20% em microtubos Eppendorf® identificados, homogeneizadas em vórtex e congeladas a -20°C para posteriores testes de antibiograma e de PCR. As cepas de *E. coli* isoladas de cada amostra foram identificadas como E1, E2, E3 e assim subsequentemente até o isolado E54.

Para os testes de antibiograma, as colônias de *E. coli* foram inoculadas do AS para o caldo Müller-Hinton e incubadas a 37°C até apresentarem turbidez de 0,5 na escala de McFarland e daí os isolados foram distribuídos uniformemente em ágar Müller-Hinton. Após a adição dos discos de antibióticos, as placas foram incubadas a 37°C por 18 horas e os diâmetros dos alos de inibição para cada antibiótico foram mensurados para classificação dos antibióticos como

sensíveis, intermediários ou resistentes, de acordo com os critérios estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility, 2023 (BrCAST)* e pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010 (CLSI)*. Cada amostra passou por dois antibiogramas, e a sensibilidade final foi estabelecida a partir da média das duas mensurações de alos.

Os antibióticos testados nos antibiogramas foram: amoxicilina 10 µg, amoxicilina/ ácido clavulânico 30 µg, ampicilina 10 µg, ampicilina/sulbactam 10 µg, aztreonam 30 µg, cefalexina 30 µg, cefepime 30 µg, ceftizoxima 30 µg, ceftriaxona 30 µg, enrofloxacin 5 µg, gentamicina 10 µg, imipenem 10 µg, marbofloxacin 5 µg, meropenem 10 µg, sulfazotrim (sulfametoxazol/trimetoprim) 300 µg, sulfonamidas 300 µg, tetraciclina 30 µg, e tobramicina 10 µg.

Para a extração do DNA dos isolados de *E. coli*, foram coletadas quatro colônias das bactérias isoladas em AS, colocadas em 200 µl de água Milli-Q® em microtubos Eppendorf®, homogeneizadas em vórtex e levadas a banho-maria a 100°C por 10 minutos. Essas amostras foram então centrifugadas a 13.000 RPM por 15 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi retirado com uma micropipeta. A quantidade e pureza do DNA foi avaliada por meios de espectrofotometria de massa (NanoVue™ Plus Spectrophotometer) medindo a absorbância a 230, 260 e 280 nm, com determinação das razões de absorbância 260/230 e 260/230.

A partir desses isolados, foi executada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em cada amostra para os genes intimina (*eae*), F41, K99, LT-1, LT-2, STa, STb, Stx1 e Stx2. As sequências de nucleotídeos dos *primers* de cada gene são apresentados na Tabela 2. Para cada reação foram utilizados 1 µl do DNA extraído de cada amostra e controles, 9,5 µl de água Milli-Q®, 12,5 µl de Taq Pol Master Mix 2X Cellco®, 1 µl de primer *forward* (F) e 1 µl de primer *reverse* (R), totalizando 25 µl em cada microtubo Eppendorf®. As reações foram processadas em termociclador, seguindo o protocolo recomendado no kit de PCR Taq Pol Master Mix 2X Cellco®, com as temperaturas de anelamento recomendadas para cada gene (Tabela 3). Foi feito o procedimento de eletroforese em gel de agarose a 1,5% e os produtos de amplificação e ladder de 1 kb foram corados com brometo de etídeo para visualização em transiluminador de ultravioleta.

Tabela 2 – Genes de *E. coli* patogênicas intestinais, sequências de nucleotídeos dos *primers* utilizados em PCR e tamanho de pares de bases (pb) dos amplicons.

Gene alvo	Sequência dos primers	Tamanho do amplicon (pb)
<i>eae</i> -F	5'-GACCCGGCACAAGCATAAGC-3'	384
<i>eae</i> -R	5'-CCACCTGCAGCAACAAGAGG-3'	
F41-F	5'-GAGGGACTTTCATCTTTTAG-3'	431
F41-R	5'-AGTCCATTCCATTTATCGGC-3'	
K99-F	5'-TGGGACTACCAATGCTTCTG-3'	450
K99-R	5'-TATCCACCATTAGACGGAGC-3'	
LT-1-F	5'-TATCCTCTCTATATGCACAG-3'	480
LT-1-R	5'-CTGTAGTGGAAGCTGTTATA-3'	
LT-2-F	5'-AGATATAATGATGGATATGTATC-3'	300
LT-2-R	5'-TAACCCTCGAAATAAATCTC-3'	
STa-F	5'-TCCGTGAAACAACATGACGG-3'	244
STa-R	5'-ATAACATCCAGCACAGGCAG-3'	
STb-F	5'-GCCTATGCATCTACACAATC-3'	172
STb-R	5'-TGAGAAATCGACAATGTCCG-3'	
Stx1-F	5'-AGGTTGCAGCTCTCTTTCAATA-3'	364
Stx1-R	5'-TGCAAACAAATTATCCCCTGAG-3'	
Stx2-F	5'-GGGCAGTTATTTTGCTGTGGA-3'	386
Stx2-R	5'-GTATCTGCCTGAAGCGTAA-3'	

Tabela 3 – Protocolo de PCR para os genes de *E. coli* patogênicas intestinais pesquisados.

Gene alvo	Etapa	Temperatura	Tempo	Ciclos
Comum a todos	Desnaturação inicial	95°C	1 minuto	1
Comum a todos	Desnaturação	95°C	30 segundos	1
F41	Anelamento	62°C	30 segundos	35
Intimina	Anelamento	62°C	30 segundos	35
K99	Anelamento	60°C	30 segundos	35
LT-1	Anelamento	48°C	30 segundos	35
LT-2	Anelamento	48°C	30 segundos	35
STa	Anelamento	60°C	30 segundos	35
STb	Anelamento	60°C	30 segundos	35
Stx1	Anelamento	57°C	30 segundos	35
Stx2	Anelamento	59°C	30 segundos	35
Comum a todos	Extensão	72°C	1 minuto	35
Comum a todos	Extensão final	72°C	2 minutos	1

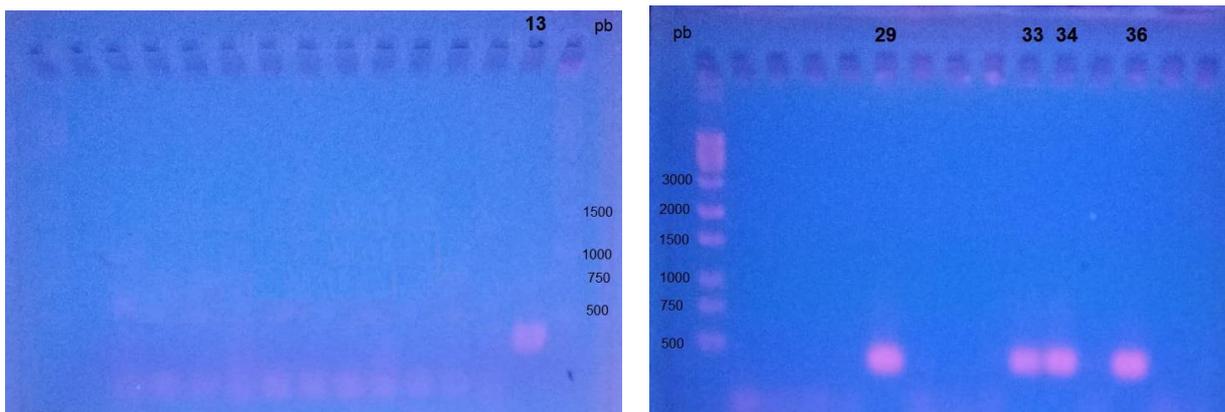
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do cultivo microbiológico das 66 amostras inoculadas, uma de cada cão, 12 amostras não apresentaram crescimento de *E. coli*, sendo então descartadas das análises do estudo. Dos 54 cães amostrados, provenientes de várias regiões administrativas do Distrito Federal, houve uma grande variedade de raças, sendo a maior parte sem raça definida (SRD) (38,9%) e Shih-tzu (18,5%). 28 animais eram machos (51,9%) e 26 fêmeas (48,1%). A idade variou de 2 meses a 16 anos.

33 tutores relataram que alimentavam seus cães apenas com ração (61,1%), 18 com ração e comida (33,3%) e 3 somente com comida (5,6%). 31 tutores relataram que seus animais não tinham histórico de diarreia (57,4%) e 23 relataram histórico de diarreia (42,6%) e destes, 5 animais estavam diarreicos no dia da coleta (9,3%). Quanto ao histórico de uso de antibióticos, 38 tutores relataram que seus animais já haviam utilizado (70,4%), 14 tutores relataram que seus animais nunca haviam utilizado (25,9%) e 2 não sabiam (3,7%). Essas informações estão mais suscetíveis a erros sistemáticos devido o viés de memória. Todas as características até aqui descritas estão apresentadas no Anexo B.

Quanto às questões de saneamento, 51 tutores relataram que a água de suas residências chegava através da rede geral de abastecimento (94,4%) e 3 tutores relataram outros tipos de abastecimento (poço e poço artesiano) (5,6%). A rede geral de esgoto foi apontada como o destino de águas residuais por 45 pessoas (83,3%), 5 apontaram fossas com algum tipo de tratamento, como fossas sépticas e ecológicas (9,3%) e 4 relataram que o destino eram fossas rudimentares, sem nenhum tratamento (7,4%). A destinação das fezes dos cães é o lixo e/ou o vaso sanitário segundo 48 tutores (88,9%), 4 pessoas deixavam as fezes dos animais no ambiente (7,4%) e 2 descartam diretamente na caixa de esgoto (3,7%). As características no território de moradia estão descritas no Anexo C.

As 54 cepas de *E. coli* isoladas, uma de cada amostra, foram testadas para todos os genes de patogenicidade estudados e cinco isolados (9,3%) apresentaram resultado positivo em exame de PCR para o gene codificador da intimina (*eae*), com bandas amplificadas na altura de 384 pb para as amostras E13, E29, E33, E34 e E36 (Figuras 1 e 2), indicando que estes isolados possam ser de *E. coli* enteropatogênica (EPEC). Para os outros genes de patogenicidade, todas as amostras apresentaram resultados negativos.



Figuras 1 e 2 – Resultados da amplificação do gene *eae* em gel de agarose dos isolados de *E. coli* das amostras E13, E29, E33, E34 e E36. Bandas marcadas na altura de 384 pb.

Algumas características sobre o saneamento ambiental, localidade e histórico de diarreia dos animais amostrados com *E. coli eae+* são apresentadas na Tabela 4. Algo que chamou atenção foi o fato de que das 4 amostras provenientes de cães cujo o destino das águas residuais de suas moradias eram fossas rudimentares (E13, E25, E31 e E33), metade (50%) apresentaram resultados para *E. coli eae+*, porcentagem superior quando comparado com o quantitativo de amostras de animais com *E. coli eae+* cujo o destino das águas residuais de suas moradias é a rede geral de esgoto (6,7%).

Tabela 4 – Características relatadas pelos tutores quanto ao histórico de diarreia, abastecimento de água e destino de águas residuais no local de moradia dos cinco animais que apresentaram amostras *E. coli eae+*.

Amostra	Histórico de diarreia	Abastecimento de água	Destino de águas residuais	Localidade de Moradia
E13	Sim	Rede geral	Fossa rudimentar	Núcleo Rural Granja do Torto
E29	Não	Rede geral	Rede geral	Candangolândia
E33	Não	Rede geral	Fossa rudimentar	Sobradinho (SH Nova Colina)
E34	Sim	Rede geral	Rede geral	Asa Norte
E36	Sim	Rede geral	Rede geral	Jardim Botânico

As más condições de saneamento básico, que ainda é a realidade em muitas localidades do Brasil, principalmente em regiões rurais, estão intrinsecamente ligadas à ocorrência de

doenças diarreicas infecciosas ocasionadas por *E. coli* patogênicas e outros agentes etiológicos (GOMES *et al.*, 2020). Além disso, o uso de fossas rudimentares é um risco para a contaminação de águas subterrâneas por agentes microbiológicos patogênicos (BRUM *et al.*, 2016).

Os resultados da sensibilidade antimicrobiana aos antibióticos testados são apresentados na Tabela 5 e no Anexo D. As classes de antibióticos que obtiveram maior sensibilidade frente aos isolados testados foram as penicilinas (principalmente as associadas com inibidores de β -lactamase: amoxicilina/ácido clavulânico e ampicilina/sulbactam) e fluoroquinolonas (principalmente marbofloxacina), embora haja também um número significativo de isolados resistentes a esses antibióticos.

Tabela 5 – Quantitativo da sensibilidade antimicrobiana dos isolados de *E. coli* para cada antibiótico testado.

Antibiótico	Sensíveis (%)	Intermediários (%)	Resistentes (%)
Amoxicilina	35 (64,8)	0 (0)	19 (35,2)
Amoxicilina/ácido clavulânico	47 (87)	0 (0)	7 (13)
Ampicilina	33 (61,1)	0 (0)	21 (38,9)
Ampicilina/sulbactam	46 (85,2)	0 (0)	8 (14,8)
Aztreonam	26 (48,1)	7 (13)	21 (38,9)
Cefalexina	28 (51,9)	0 (0)	26 (48,1)
Cefepime	9 (16,6)	15 (27,8)	30 (55,6)
Ceftizoxima	25 (46,3)	5 (9,3)	24 (44,4)
Ceftriaxona	21 (38,9)	8 (14,8)	25 (46,3)
Enrofloxacina	32 (59,2)	11 (20,4)	11 (20,4)
Gentamicina	4 (7,4)	0 (0)	50 (92,6)
Imipenem	31 (57,4)	15 (27,8)	8 (14,8)
Marbofloxacina	42 (77,8)	9 (16,6)	3 (5,6)

Meropenem	25 (46,3)	8 (14,8)	21 (38,9)
Sulfazotrim	27 (50)	8 (14,8)	19 (35,2)
Sulfonamidas	2 (3,7)	0 (0)	52 (96,3)
Tetraciclina	13 (24,1)	0 (0)	41 (75,9)
Tobramicina	12 (22,2)	0 (0)	42 (77,8)

A alta porcentagem de cepas de *E. coli* intermediárias a resistentes a antibióticos β -lactâmicos, como observado com as cefalosporinas (cefalexina, cefepime, ceftizoxima, ceftriaxona) e o aztreonam, vem sendo cada vez mais prevalente principalmente devido à ampla distribuição de cepas produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) e AmpC β -lactamase, que conferem resistência a esses antimicrobianos em animais, inclusive em humanos (EWERS *et al.*, 2012; POIREL *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2020; SALGADO-CAXITO *et al.*, 2021).

As sulfonamidas, que foram uma das primeiras drogas que foram sistematicamente utilizadas contra muitas infecções bacterianas, há algumas décadas que já são pouco usadas exatamente pela sua resistência generalizada. O mesmo ocorreu com as tetraciclinas (SKÖLD, 2000; THAKER, *et al.*, 2010; POIREL *et al.*, 2018). Neste estudo, as sulfonamidas foram as que obtiveram a maior quantidade de resistências frente aos isolados de *E. coli* deste estudo e a associação sulfazotrim obteve metade dos isolados classificados como intermediários e resistentes. A baixa sensibilidade também ocorreu nos isolados testados para as tetraciclinas.

A alta resistência a aminoglicosídeos (gentamicina e tobramicina) encontrada no estudo reflete a resistência global que esses antibióticos já vêm tendo ocasionada por diferentes mecanismos (POIREL *et al.*, 2018). Para a gentamicina já foi demonstrado o compartilhamento do mesmo *pool* de genes de resistência em isolados de *E. coli* de animais e humanos (HO *et al.*, 2010).

Houve uma porcentagem expressiva de cepas classificadas como intermediárias e resistentes a ação dos antibióticos carbapenêmicos (imipenem e meropenem). A resistência a essa classe de antibióticos já é bem relatada em humanos mediada principalmente pela ação de carbapenemases, e vem sendo progressivamente também identificada em isolados de outros animais (GRÖNTHAL, *et al.*, 2018; POIREL *et al.*, 2018).

A Tabela 6 apresenta o perfil de sensibilidade aos antibióticos testados frente aos isolados de *E. coli eae+* e o histórico de uso de antibióticos pelos animais segundo os tutores. O fato do animal da amostra E13 ser o mais novo entre os animais amostrados (2 meses de idade) e não ter histórico de uso de antibióticos corrobora a maior sensibilidade aos antibióticos testados que foi encontrada, sendo resistente a alguns antibióticos já estabelecidos como amplamente resistentes.

Tabela 6 – Perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados de *E. coli eae+* e histórico de uso de antibióticos pelos animais, segundo os tutores.

Amostras eae +	Antib. Sensíveis	Antib. Interm.	Antib. Resistentes
E13 (sem histórico de uso de antibiótico)	AMO, AMC, AMP, ASB, ATM, CFE, CTZ, CRO, ENO, IMP, MBF, MER, SUT e TET.	CPM.	GEN, SUL e TOB.
E29 (com histórico de uso de antibiótico)	AMC, ASB, CFE e SUT.	ENO, IMP e MBF.	AMO, AMP, ATM, CPM, CTZ, CRO, GEN, MER, SUL, TET e TOB.
E33 (com histórico de uso de antibiótico)	ASB, CFE, ENO e MBF.	IMP.	AMO, AMC, AMP, ATM, CPM, CTZ, CRO, GEN, MER, SUT, SUL, TET e TOB.
E34 (com histórico de uso de antibiótico)	AMC, AMP, ASB, ENO e MBF.		AMO, ATM CFE, CPM, CTZ, CRO, GEN, IMP, MER, SUT, SUL, TET e TOB.
E36 (com histórico de uso de antibiótico)	AMC e MBF.	SUT.	AMO, AMP, ASB, ATM, CFE, CPM, CTZ, CRO, GEN, IMP, MER, ENO, SUL, TET e TOB.

Legenda: AMO – amoxicilina, AMC - amoxicilina/ácido clavulânico, AMP – ampicilina, ASB - ampicilina/sulbactam, ATM – aztreonam, CFE – cefalexina, CPM – cefepime, CTZ – ceftizoxima, CRO – ceftriaxona, ENO – enrofloxacina, GEN – gentamicina, IMP – imipenem, MBF – marbofloxacina, MER – meropenem, SUT – sulfazotrim, SUL – sulfonamidas, TET – tetraciclina, TOB – tobramicina.

Os outros isolados apresentaram maior sensibilidade a antibióticos das classes das penicilinas associadas a inibidores de β -lactamase e fluoroquinolonas e maior resistência as outras classes, corroborando o que foi encontrado de forma geral no presente estudo e na literatura. Ainda assim, alguns desses antibióticos considerados mais sensíveis foram classificados como resistentes frente a esses isolados, o que poderia significar um desafio em um eventual tratamento de uma infecção intestinal ocasionada por essas cepas.

5. CONCLUSÃO

As bactérias patogênicas da espécie *Escherichia coli* vêm se mostrando como agentes infecciosos emergentes de extrema importância para a saúde animal e pública devido a vários fatores, como: possuir um número significativo de patótipos já estabelecidos com capacidade de afetar diferentes sistemas orgânicos além do sistema digestivo; sua capacidade de colonizar diferentes hospedeiros animais; sua capacidade de transferência horizontal de genes por diferentes elementos genéticos móveis, favorecendo a transferência de fatores de virulência, como a toxina Shiga, e genes de resistência à antibióticos; sua persistência ambiental que favorece a ocorrência de surtos, principalmente através de alimentos e água; sua crescente resistência intrínseca à antibióticos e seu potencial zoonótico.

Este trabalho demonstrou a presença do fator de virulência intimina em amostras de fezes de cães positivas para o gene *eae* em isolados de *E. coli*. Houve correlação entre cães positivos para este gene e más condições de saneamento básico em suas moradias, pelo uso de fossas rudimentares para o escoamento de águas residuais, o que também pode proporcionar um risco de contaminação de águas subterrâneas.

A resistência antimicrobiana foi vista amplamente na maior parte dos isolados. Penicilinas associadas com inibidores de β -lactamase e fluoroquinolonas foram os antibióticos que apresentaram maior sensibilidade, porém um número significativo de cepas também foi resistente a esses antibióticos.

A investigação sobre a ocorrência de *E. coli*, incluindo a emergência de novas cepas patogênicas e resistentes a antimicrobianos, a prevenção e o controle devem ser contínuos e ter a concepção de saúde única como central nessas abordagens, visto a complexidade de fatores que determinam essa ocorrência, tendo humanos, animais e ambiente como peças fundamentais para a melhor compreensão e tomada de decisão.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, A. Über die Biologie der Dyspepsiecoli und ihre Beziehungen zur Pathogenese der Dyspepsie und Intoxikation. **Jahrbuch für Kinderheilkunde und physische Erziehung**, v. 51, p. 595-314, 1923.

AHMED, D.; ISLAM, M. S.; BEGUM, Y. A.; JANZON, A.; QADRI, F.; SJÖLING, A. Presence of enterotoxigenic *Escherichia coli* in biofilms formed in water containers in poor households coincides with epidemic seasons in Dhaka. **J. Appl. Microbiol.**, v. 114, p. 1223–1229, 2013.

ALNAJAR, S.; GUPTA, R. S. Phylogenomics and comparative genomic studies delineate six main clades within the family *Enterobacteriaceae* and support the reclassification of several polyphyletic members of the family. **Infect. Genet. Evol.**, v. 54, p. 108–127, 2017.

ASKARI, A.; GHANBARPOUR, R.; AKHTARDANESH, B.; AFLATOONIAN, M. R.; SHARIFI, H.; JAJARMI, M.; MOLAEI, R. Detection of zoonotic diarrheagenic pathotypes of *Escherichia coli* in healthy household dogs. **Iran J. Microbiol.**, v. 12, n. 6, p. 522-530, dez. 2020.

BADURA, A.; LUXNER, J.; FEIERL, G.; REINTHALER, F. F.; ZARFEL, G.; GALLER, H.; PREGARTNER, G.; RIEDL, R.; GRISOLD, A. J. Prevalence, antibiotic resistance patterns and molecular characterization of *Escherichia coli* from Austrian sandpits. **Environ. Pollut.**, v. 194, p. 24-30, 2014.

BAI, X.; SCHEUTZ, F.; DAHLGREN, H. M.; HEDENSTRÖM, I.; JERNBERG, C. Characterization of Clinical *Escherichia coli* Strains Producing a Novel Shiga Toxin 2 Subtype in Sweden and Denmark. **Microorganisms**, v. 9, n. 11:2374, nov. 2021

BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J-L.; CANTÓN, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. **Curr. Opin. Biotechnol.**, v. 19, p. 260–265, 2008.

BERALDO, L. G.; BORGES, C. A.; MALUTA, R. P.; CARDOZO, M. V.; DE ÁVILA, F. A. Molecular analysis of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolates from healthy food-producing animals and humans with diarrhoea. **Zoonoses and Public Health**, v. 70, n. 2, p. 117-124, mar. 2023.

BARTH, S.; SCHWANITZ, A.; BAUERFEIND, R. Método baseado na reação em cadeia da polimerase para tipagem de fímbrias F18 e distribuição de subtipos de fímbrias F18 entre *Escherichia coli* codificadora da toxina Shiga suína na Alemanha. **J. Vet. diag. Investi.**, v. 23, p. 454-464, 2011.

BETTELHEIM, K. A.; FAIERS, M.; SHOOTER, R. A. Serotypes of *Escherichia coli* in normal stools. **The Lancet**, v. 300, n. 7789, p. 1224-1226, dez. 1972.

BEZABIH, Y. M.; SABIITI, W.; ALAMNEH, E.; BEZABIH, A.; PETERSON, G. M.; BEZABHE, W. M.; ROUJEINIKOVA, A. The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community, **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 76, n. 1, p. 22–29, jan. 2021.

BLOUNT, Z. D. The unexhausted potential of *E. coli*. **Elife**, v. 4, n. e05826, mar. 2015.

BRANGER, C.; LEDDA, A.; BILLARD-POMARES, T.; DOUBLET, B.; FOUTEAU, S.; BARBE, V.; ROCHE, D.; CRUVEILLER, S.; MÉDIGUE, C.; CASTELLANOS, M.; DECRÉ, D.; DRIEUX-ROUZE, L.; CLERMONT, O.; GLODT, J.; TENAILLON, O.; CLOECKAERT, A.; ARLET, G.; DENAMUR, E. Extended-spectrum β -lactamase-encoding genes are spreading on a wide range of *Escherichia coli* plasmids existing prior to the use of third-generation cephalosporins. **Microb. Genom.**, v. 4, n. 9:e000203, set. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS N° 888, de 4 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS n° 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ed. 85, p. 127, 4 mai. 2021.

BRAY, J. Isolation of antigenically homogeneous strains of *Bact. coli neapolitanum* from summer diarrhoea of infants. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 57, p. 239-247, 1945.

BRAY, J. Strains of *Bact. Coli*. **British Medical Journal**, v. 2, p. 386, 1949.

BRENNER, D. J.; FARMER, J. *Enterobacteriaceae*. In: TRUJILLO, M. E.; DEDYSH, S.; DEVOS, P.; HEDLUND, B.; KÄMPFER, P.; RAINEY F. A.; WHITMAN, W. B. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, 2015.

BRUM, B. R.; OLIVEIRA, N. R.; REIS, H. C. O.; LIMA, Z. M.; MORAIS, E. B. Qualidade das águas de poços rasos em área com déficit de saneamento básico em cuiabá, mt: avaliação microbiológica, físicoquímica e fatores de risco à saúde. **Holos**, v. 2, p. 179-188, 2016,

BUSCH, U.; HORMANSDORFER, S.; SCHRANNER, S.; HUBER, I.; BOGNER, K. H.; SING, A. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* excretion by child and her cat. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 13, n. 2, p. 348–349, fev. 2007.

BUTT, S.; SALEH, M.; GAGNON, J. Impact of the *Escherichia coli* Heat-Stable Enterotoxin b (STb) on Gut Health and Function. **Toxins**, v. 12, n. 760, dez. 2020.

CALDORIN, M.; DE ALMEIDA, I. A. Z. C.; PERESI, J. T. M.; ALVES, E. C. Ocorrência de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) no Brasil e sua importância em saúde pública. **BEPA**, v. 10, n. 110, p. 4-20, 2013.

CAMPOS, L. C. Infecções Causadas por *Escherichia coli*. In: COURA, J. R. **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**, 2.ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2018.

CARVALHO, A. C.; BARBOSA, A. V.; ARAIS, L. R.; RIBEIRO, P. F.; CARNEIRO V. C.; CERQUEIRA, A. M. F. Resistance patterns, ESBL genes, and genetic relatedness of *Escherichia coli* from dogs and owners. **Braz. J. Microbiol.**, v. 47 n. 1, p. 150–158, jan. 2016.

CASTELLANI, A.; CHALMERS, A. J. **Manual of Tropical Medicine**. London: Baillière, Tindall and Cox, 3.ed., 1919.

CHENG, D.; SUN, H.; XU, J.; GAO, S. Detecção por PCR de genes de fator de virulência em isolados de *Escherichia coli* de leitões desmamados com doença de edema e/ou diarreia na China. **Veterinario. Microbiol.**, v. 115, p. 320–328, 2006.

CROXEN, M. A.; FINLAY, B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nat. Rev. Microbiol.**, v.8, p. 26–38, 2010.

CROXEN, M. A.; LAW, R. J.; SHOLZ, R.; KEENEY, K. M.; WLODARSKA, M.; FINLAY, B. B. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. **ASM Journals Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, out. 2013.

DE RAUW, K.; THIRY, D.; CALJON, B.; SAULMONT, M.; MAINIL, J.; PIÉRARD, D. Características da *Escherichia coli* enteropatogênica e produtora de toxina Shiga do sorotipo emergente O80:H2 isolada de humanos e bezerros com diarreia na Bélgica. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 1, p. 111.e5–111, jan. 2019.

- DENAMUR, E.; CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; GORDON, D. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 19, p. 37–54, 2021.
- ESCHERICH, T. Die Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglings. **Fortschr. d. Med.**, v. 3, p. 515-522, 1885.
- EDBERG, S. C.; RICE, E. W.; KARLIN, R. J.; ALLEN, M. J. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. **J. Appl. Microbiol.**, v. 88, p. 106S–116S, 2000.
- EWER, C.; BETHE, A.; SEMMLER, T.; GUENTHER, S.; WIELER, L. H. Extended-spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 7, p. 646-655, jul. 2012.
- FOSTER-NYARKO, E.; PALLEN M. J. The microbial ecology of *Escherichia coli* in the vertebrate gut, **FEMS Microbiology Reviews**, v. 46, n. 3, mai. 2022.
- GAASTRA, W.; KUSTERS, J.G.; VAN DUIJKEREN, E.; LIPMAN, L.J.A. *Escherichia fergusonii*. **Veterinary Microbiology**, v. 172, n. 1–2, p. 7-12, 2014.
- GALLI, L.; TORRES, A. G.; RIVAS, M. Identification of the long polar fimbriae gene variants in the locus of enterocyte effacement-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from humans and cattle in Argentina. **FEMS Microbiology Letters**, v. 308, p. 123–129, 2010.
- GANGIREDLA, J.; MAMMEL, M. K.; BARNABA, T. J.; TARTERA, C.; GEBRU, S. T.; PATEL, I. R.; LEONARD, S. R.; KOTEWICZ, M. L.; LAMPEL, K. A.; ELKINS, C. A.; LACHER, D. W. Draft Genome Sequences of *Escherichia albertii*, *Escherichia fergusonii*, and Strains Belonging to Six Cryptic Lineages of *Escherichia* spp. **Genome announcements**, v. 6 n. 18, 2018.
- GOMES, F. M. S.; SANTO, M. C. C. E.; GRYSCHKEK, R. C. B.; BERTOLOZZI, M. R.; FRANÇA, F. O. S. Access to drinking water and sewage treatment in Brazil: a challenge for the control of waterborne infectious diseases. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 62, 2020.

GOMES, T. A. T.; ELIAS, W. P.; SCALETSKY, I. C. A.; GUTH, B. E. C.; RODRIGUES, J. F.; PIAZZA, R. M. F.; FERREIRA, L. C. S.; MARTINEZ, M. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Braz. J. Microbiol.**, v. 47, p. 3–30, 2016.

GOMES, T. A. T.; OOKA, T.; HERNANDES, R. T.; YAMAMOTO, D.; HAYASHI, T. *Escherichia albertii* Pathogenesis. **EcoSal Plus**, v. 9, n. 1, jun. 2020.

GRÖNTHAL, T.; ÖSTERBLAD, M.; EKLUND, M.; JALAVA, J.; NYKÄSENOJA, S.; PEKKANEN, K.; RANTALA, M. Sharing more than friendship – transmission of NDM-5 ST167 and CTX-M-9 ST69 *Escherichia coli* between dogs and humans in a family, Finland, 2015. **Euro Surveill**, v. 23, n. 27, p. 1-10, 2018.

HATA, H.; NATORI, T.; MIZUNO, T.; KANAZAWA, I.; ELDESOUKY, I.; HAYASHI, M.; MIYATA, M.; FUKUNAGA, H.; OHJI, S.; HOSOYAMA, A.; AONO, E.; YAMAZOE, A.; TSUCHIKANE, K.; FUJITA, N.; EZAKI, T. Phylogenetics of family Enterobacteriaceae and proposal to reclassify *Escherichia hermannii* and *Salmonella subterranea* as *Atlantibacter hermannii* and *Atlantibacter subterranea* gen. nov., comb. nov. **Microbiol. Immunol.**, v. 60, p. 303–311, 2016.

HAZEN, T. H.; DONNENBERG, M. S.; PANCHALINGAM, S.; ANTONIO, M.; HOSSAIN, A.; MANDOMANDO, I.; OCHIENG, J. B.; RAMAMURTHY, T.; TAMBOURA, B.; QURESHI, S.; QUADRI, F.; ZAIDI, A.; KOTLOFF, K. L.; LEVINE, M. M.; BARRY, E. M.; KAPER, J. B.; RASKO, D. A.; NATARO, J. P. Genomic Diversity of EPEC Associated with Clinical Presentations of Differing Severity. **Nat. Microbiol.**, v. 1, n. 15014, jan. 2016.

HO, P-L.; WONG, R. C.; LO, S. W.; CHOW, K-H.; WONG, S. S.; QUE, T-L. Genetic identity of aminoglycoside-resistance genes in *Escherichia coli* isolates from human and animal sources. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 6, jun. 2010.

HOBMAN, J. L.; PENN, C. W.; PALLEN, M. J. Laboratory strains of *Escherichia coli*: model citizens or deceitful delinquents growing old disgracefully? **Molecular Microbiology**, v. 64, p. 881-885, 2007.

HOGG, R. A.; HOLMES, J. P.; GHEBREHEWET, S.; ELDERS, K.; HART, J.; WHITESIDE, C.; WILLSHAW, G. A.; CHEASTY, T.; KAY, A.; LYNCH, K.; PRITCHARD, G. C. Probable zoonotic transmission of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O 157 by dogs, **Vet. Rec.**, v. 164, p. 304–305, 2009.

JANG, J.; HUR, H-G.; SADOWSKY, M. J.; BYAPPANAHALLI, M. N.; YAN, T.; ISHII, S. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 3, p. 570-581, set. 2017.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 2 p. 123–40, 2004.

KARCH, H.; DENAMUR, E.; DOBRINDT, U.; FINLAY, B. B.; HENGGE, R.; JOHANNES, L.; RON, E. Z.; TØNJUM, T; SANSONETTI, P. J.; VICENTE, M. The enemy within us: lessons from the 2011 European *Escherichia coli* O104:H4 outbreak. **EMBO Mol. Med.**, v. 4, p. 841–848, 2012.

KATHAYAT, D.; LOKESH, D.; RANJIT, S.; RAJASHEKARA, G. Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC): An Overview of Virulence and Pathogenesis Factors, Zoonotic Potential, and Control Strategies. **Pathogens**, v. 10, n. 467, 2021.

KAUFFMANN, F; DUPONT, A. *Escherichia* Strains from Infantile Epidemic Gastro-enteritis. **Acta Pathologica Et Microbiologica Scandinavica**. v. 27, p. 552-564, 1950.

KHALIL, I. A.; TROEGER, C.; BLACKER B. F.; RAO P. C.; BROWN A.; ATHERLY, D. E.; BREWER, T. G.; ENGMANN, C. M.; HOUP, E. R.; KANG, G.; KOTLOFF, K. L.; LEVINE, M. M.; LUBY, S. P.; MACLENNAN, C. A.; PAN, W. K.; PAVLINAC, P. B.; PLATTS-MILLS, J. A.; QADRI, F.; RIDDLE, M. S.; RYAN, E. T.; SHOULTZ, D. A.; STEELE, A. D.; WALSON, J. L.; SANDERS, J. W.; MOKDAD, A. H.; MURRAY, C. J. L.; HAY, S. I.; REINER JR., R. C. Morbidity and mortality due to shigella and enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea: the Global Burden of Disease Study 1990–2016. **Lancet Infect. Dis.**, v. 18, p. 1229–1240, 2018.

KIM, J.; LEE, M.; KIM, J. H. Recent Updates on Outbreaks of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Its Potential Reservoirs. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, v. 10, n. 273, 2020.

KITTANA, H.; GOMES-NETO, J. C.; HECK, K.; JURITSCH, A. F.; SUGHROUE, J.; XIAN, Y.; MANTZ, S.; MUÑOZ, R. R. S.; CODY, L. A.; SCHMALTZ, R. J.; ANDERSON, C. L.; MOXLEY, R. A.; HOSTETTER, J. M.; FERNANDO, S. C.; CLARKE, J.; KACHMAN, S. D.; CLESSLER, C. E.; BENSON, A. K.; WALTER, J.; RAMER-TAIT, A. E. Evidence for a Causal Role for *Escherichia coli* Strains Identified as Adherent-Invasive (AIEC) in Intestinal Inflammation. **ASM Journals / MSphere**, v. 8, n. 2, 2023.

- KOENIG, A. Infecções por Bactérias Gram-negativas. In: GREENE, C. E. **Doenças Infeciosas em Cães e Gatos**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 367-377.
- LEUNG, A. K. C.; LEUNG, A. A. M.; WONG, A. H. C.; HON, K. L. Travelers' Diarrhea: A Clinical Review. **Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery**, v. 13, n. 1, p. 38-48, 2019.
- LOTHIGIUS, A.; SJÖLING, A.; SVENNERHOLM, A-M.; BÖLIN, I. Survival and gene expression of enterotoxigenic *Escherichia coli* during long-term incubation in sea water and freshwater. **J. Appl. Microbiol.**, v. 108, p. 1441–1449, 2010.
- LENTZ, E. K.; LEYVA-ILLADES, D.; LEE, M. S.; CHERLA, R. P.; TESH, V. L. Differential response of the human renal proximal tubular epithelial cell line HK-2 to Shiga toxin types 1 and 2. **Infect. Immun.**, v. 79, p. 3527–3540, 2011.
- LIU, B.; FUREVI, A.; PERPELOV, A. V.; GUO, X.; CAO, H.; WANG, Q.; REEVES, P. R.; KNIREL, Y. A.; WANG, L.; WIDMALM, G. Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens, **FEMS Microbiology Reviews**, v. 44, n. 6, p. 655–683, nov. 2020.
- MANSFIELD, C. S.; JAMES, F. E.; CRAVEN, M.; DAVIES, D. R.; O'HARA, A. J.; NICHOLLS, P. K.; DOGAN, B.; MACDONOUGH, S. P.; SIMPSON, K. W. Remission of Histocytic Ulcerative Colitis in Boxer Dogs Correlates with Eradication of Invasive Intramucosal *Escherichia coli*. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 23, n. 5, p. 964-969, 2009.
- MARE, A. D.; CIUREA, C. N.; MAN, A.; TUDOR, B.; MOLDOVAN, V.; DECEAN, L.; TOMA, F. Enteropathogenic *Escherichia coli*—A Summary of the Literature. **Gastroenterol. Insights**, v. 12, p. 28-40, 2021.
- MARTINEZ, J. L. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 276, n. 1667, jul. 2009.
- MARTINEZ-MEDINA, M.; GARCIA-GIL, L. J. *Escherichia coli* in chronic inflammatory bowel diseases: An update on adherent invasive *Escherichia coli* pathogenicity. **World J. Gastrointest. Pathophysiol.**, v. 5, n. 3, p. 213-227, ago. 2014.
- MARTINSON, J. N. V.; WALK, S. T. Residency in the gut of healthy human adults. **EcoSal Plus**, v. 9, n. 10, 2020.

MCFARLAND, N.; BUNDLE, N.; JENKINS, C.; GODBOLE, G.; MIKHAIL, A.; DALLMAN, T.; O'CONNOR, C.; MCCARTHY, N.; O'CONNELL, E.; TREACY, J.; DABKE, G.; MAPSTONE, J.; LANDY, Y.; MOORE, J.; PARTRIDGE, R.; JORGENSEN, F.; WILLIS, C.; MOOK, P.; RAWLINGS, C.; ACORNLEY, R.; FEATHERSTONE, C.; GAYLE, S.; EDGE, J.; MCNAMARA, E.; HAWKER, J.; BALASEGARAM, S. Recurrent seasonal outbreak of an emerging serotype of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC O55:H7 Stx2a) in the south west of England, July 2014 to September 2015. **Euro. Surveill.**, v. 22, p. 1–10, 2017.

MÉNDEZ-MORENO, E.; CAPORAL-HERNANDEZ, L.; MENDEZ-PFEIFFER, P.A.; ENCISO-MARTINEZ, Y.; LÓPEZ, R.; VALENCIA, D.; ARENAS-HERNÁNDEZ, M. M. P.; BALLESTEROS-MONRREAL, M. G.; BARRIOS-VILLA, E. Characterization of Diarrheagenic *Escherichia coli* Strains Isolated from Healthy Donors, including a Triple Hybrid Strain. **Antibiotics**, v. 11, n. 7, 2022.

MITSUOKA, T.; OHNO, K.; BENNO, Y.; SUZUKI, K.; NAMBA, K. The fecal flora of man. Communication: comparison of the newly developed method with the old conventional method for the analysis of intestinal flora. **Zentralbl Bakteriolog Orig A.**, v. 234, n. 2; p. 219–233, mar. 1976.

MOURA, R. A.; SIRCILI, M. P.; LEOMIL, L.; MATTÉ, M. H.; TRABULSI, L. R.; ELIAS, W. P.; IRINO, K.; DE CASTRO, A. F. P. Clonal relationship among atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from different animal species and humans. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 75, n. 23, p. 7399–7408, dez. 2009.

MOXLEY, R. Família Enterobacteriaceae. In: McVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. Microbiologia Veterinária. 3.ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2017.

MUCHAAMBA, F.; BARMETTLER, K.; TREIER, A.; HOUF, K.; STEPHAN, R. Microbiology and Epidemiology of *Escherichia albertii*—An Emerging Elusive Foodborne Pathogen. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, 2022.

MUELLER, N. T.; BAKACS, E.; COMBELLICK, J.; GRIGORYAN, Z.; DOMINGUEZ-BELLO, M. G. The infant microbiome development: mom matters. **Trends. Mol. Med.**, v. 21, n. 2, p. 109–117, 2015.

NADALIAN, B.; YADEGAR, A.; HOURI, H.; OLFATIFAR, M.; SHAHROKH, S.; AGHDAEI, H. A.; SUZUKI, H.; ZALI, M. R. Prevalence of the pathobiont adherent-invasive

Escherichia coli and inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. **Artificial Intelligence in Microbiome**, v. 36, n. 4, p. 852-863, abr. 2021.

PEARSON, J. S.; GIOGHA, C.; WONG, T.; LUNG, F.; HARTLAND, E.L. The Genetics of Enteropathogenic *Escherichia coli* Virulence. **Annu Rev. Genet.**, v. 50, p. 493-513, 2016.

PENDERS, J.; THIJS, C.; VINK, C.; STELMA, F. F.; SNIJDERS, B.; KUMMELING, I.; VAN DEN BRANDT, P. A.; STOBBERINGH, E. E. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. **Pediatrics**, v. 118, n. 2, 511–521, ago. 2006.

POIREL, L.; MADEC, J.; LUPO, A.; SCHINK, A.; KIEFFER, N.; NORDMANN, P.; SCHWARZ, S. Antimicrobial Resistance in Escherichia coli. **ASM Journals Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 4, jul. 2018.

PORMOHAMMAD, A.; NASIRI, M. J.; AZIMI, T. 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.

POULSEN, L. K.; LAN, F.; KRISTENSEN, C. S. et al. Spatial distribution of Escherichia coli in the mouse large intestine inferred from rRNA in situ hybridization. **Infection Immunity**, v. 62, n. 11, p. 5191–5194, nov. 1994.

PRADHAN, S.; PELLINO, C.; MACMASTER, K.; COYLE, D.; WEISS, A. A. Shiga toxin mediated neurologic changes in murine model of disease. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, v. 6, n. 114, 2016.

PRIEST, F.G.; BARKER, M. Gram-negative bacteria associated with brewery yeasts: reclassification of *Obesumbacterium proteus* biogroup 2 as *Shimwellia pseudoproteus* gen. nov., sp. nov., and transfer of *Escherichia blattae* to *Shimwellia blattae* comb. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v 60, p. 828–833, 2010.

PROCOP, G. W.; CHURCH, D. L.; HALL, G. S.; JANDA, W. M.; KONEMAN, E. W.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WOODS, G. L. **Diagnóstico microbiológico / texto e atlas**, 7. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Googan, 2018.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S.; FANNING, S. **Microbiologia veterinária essencial**. 2. ed. Porto Alegre : Artmed, 2018.

RASKO, D. A.; ROSOVITZ, M. J.; MYERS, G. S. A.; MONGODIN, E. F.; FRICKE, W. F.; GAJER, P.; CRABTREE, J.; SEBAIHIA, M.; THOMSON, N. R.; CHAUDHURI, R.; HENDERSON, I. R.; SPERANDIO, V.; RAVEL, J. The pangenome structure of *Escherichia coli*: comparative genomic analysis of *E. coli* commensal and pathogenic isolates. **J. Bacteriol.**, v. 190, n. 20, p. 6881–6893, 2008.

RICHTER, T. K. S.; MICHALSKI, J. M.; ZANETTI, L.; TENNANT, S. M.; CHEN, W. H.; RASKO, D. A. Responses of the human gut *Escherichia coli* population to pathogen and antibiotic disturbances. **MSystems**, v. 3, n. 4, 2018.

RUMI, M. V.; IRINO, K.; DEZA, N.; HUGUET, M. J.; BENTANCOR, A. B. First isolation in argentina of a highly virulent Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O145:NM from a domestic cat. **J. Infect. Dev. Ctries.**, v. 6, p. 358–363, 2012.

SALGADO-CAXITO, M.; BENAVIDES, J. A.; ADELL, A. D.; PAES, A. C.; MORENO-SWITT, A. I. Global prevalence and molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase producing-*Escherichia coli* in dogs and cats – A scoping review and meta-analysis. **One Health**, v. 12, jun. 2021.

SANTOS, A. C. M.; SANTOS, F. F.; SILVA, R. M.; GOMES, T. A. T. Diversity of Hybrid- and Hetero-Pathogenic *Escherichia coli* and Their Potential Implication in More Severe Diseases. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, jul. 2020.

SAROWSKA, J.; FUTOMA-KOLOCH, B.; JAMA-KMIECIK, A.; FREJ-MADRZAK, M.; KSIAZCZYK, M.; BUGLA-PLOSKONSKA, G.; CHOROSZY-KROL, I. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. **Gut Pathogens**, v. 11, n. 10, 2019.

SERVIN, A. L. Pathogenesis of Human Diffusely Adhering *Escherichia coli* Expressing Afa/Dr Adhesins (Afa/Dr DAEC): Current Insights and Future Challenges. **ASM Journals Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, out. 2014.

SIMPSON, K. W.; DOGAN, B.; RISHNIW, M.; GOLDSTEIN, R. E.; KLAESSIG, S.; MCDONOUGH, P. L.; GERMAN, A. J.; YATES, R. M.; RUSSELL, D. G.; JOHNSON, S. E.;

et al. Adherent and invasive *Escherichia coli* is associated with granulomatous colitis in boxer dogs. **Infection Immunity**, v. 74, n. 8, p. 4778–4792, 2006.

SKÖLD, O. Sulfonamide resistance: mechanisms and trends. **Drug Resistance Updates**, v. 3, n. 3, p. 155-160, jun. 2000.

SLANETZ, L. W.; BARTLEY, C. H. Numbers of enterococci in water, sewage, and feces determined by the membrane filter technique with an improved medium. **J. Bacteriol.**, v. 74, p. 591–595, 1957.

SMILLIE, C.; GARCILLAN-BARCIA, M. P.; FRANCIA, M. V.; ROCHA, E. P.; DE LA CRUZ, F. Mobility of plasmids. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 74, p. 434–452, 2010.

SOYSAL, N.; MARIANI-KURKDJIAN, P.; SMAIL, Y.; LIGUORI, S.; GOUALI, M.; LOUKIADIS, E.; FACH, P.; BRUYAND, M.; BLANCO, J.; BIDET, P.; BONACORSI, S. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Hybrid Pathotype O80:H2 as a New Therapeutic Challenge. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 22, n.9, p.1604-1612, set. 2016.

SUVARNA, K.; STEVENSON, D.; MEGANATHAN, R. et al. Menaquinone (vitamin K2) biosynthesis: localization and characterization of the menA gene from *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**, v. 180, n. 10, p. 2782–2787, 1998.

TAMURA, K.; SAKAZAKI, R.; KOSAKO, Y.; YOSHIZAKI, E. *Leclercia adecarboxylata* gen. nov., comb. nov., formerly known as *Escherichia adecarboxylata*. **Curr Microbiol.**, v. 13, p. 179–184, 1986.

THAKER, M.; SPANOGIANNOPOULOS, P.; WRIGHT, G. D. The tetracycline resistome. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, p. 419-431, 2010.

TOOMBS-RUANE, L. J.; BENSCHOP, J.; FRENCH, N. P.; BIGGS, P. J.; MIDWINTER, A. C.; MARSHALL, J. C.; CHAN, M.; DRINKOVIĆ, D.; FAYAZ, A.; BAKER, M. G.; DOUWES, J.; ROBERTS, M. G.; BURGESS, S. A. Carriage of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase- and AmpC Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains from Humans and Pets in the Same Households. **ASM Journals Applied and Environmental Microbiology**, v. 86, n. 24, 2020.

TOUCHON, M.; PERRIN, A.; DE SOUSA, J. A. M.; VANGCHHIA, B.; BURN, S.; O'BRIEN, C. L.; DENAMUR, E.; GORDON, D.; ROCHA, E. P. Phylogenetic background and habitat drive the genetic diversification of *Escherichia coli*. **PLoS Genetics**, v. 16, n. 6, 2020.

TROEGER, C.; BLACKER, B. F.; KHALIL, I. A.; RAO, P. C.; CAO, S.; ZIMSEN, S. R.; ALBERTSON, S. B.; STANAWAY, J. D.; DESHPANDE, A.; ABEBE, Z. Estimates of the Global, Regional, and National Morbidity, Mortality, and Aetiologies of Diarrhoea in 195 Countries: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **Lancet Infect. Dis.**, v. 18, p. 1211–1228, 2018.

TUOMISTO, L.; KANT, R.; KIVIRANTA, A-M.; HELKIÖ, K-M.; SIRONEN, T.; SUKURA, A.; WILKES, R. P.; KEGLER, K. Adherent-invasive *Escherichia coli* associated with granulomatous colitis and extraintestinal dissemination in a Sphynx cat. **Veterinary Pathology**, v. 60, n. 3, p. 336-340, 2023.

USEPA. Ambient Water Quality Criteria for Bacteria. **United States Environmental Protection Agency**. Washington, DC: USEPA, 1986.

VIJAY, D.; DHAKA, P.; VERGIS, J.; NEGI, M.; MOHAN, V.; KUMAR, M.; DOIJAD, S.; POHARKAR, K.; KUMAR, A.; MALIK, S. S.; BARBUDDHE, S. B.; RAWOOL, D. B. Characterization and biofilm forming ability of diarrhoeagenic enteroaggregative *Escherichia coli* isolates recovered from human infants and young animals. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 38, p. 21-31, fev. 2015.

UBER, A. P.; TRABULSI, L. R.; IRINO, K.; BEUTIN, L.; GHILARDI, A. C. R.; GOMES, T. A. T.; LIBERATORE, A. M. A.; CASTRO, A. F. P.; ELIAS, W. P. Enteroaggregative *Escherichia coli* from humans and animals differ in major phenotypical traits and virulence genes, **FEMS Microbiology Letters**, v. 256, n. 2, p. 251–257, mar. 2006.

XAVIER, R. G. C.; DA SILVA, P. H. S.; TRINDADE, H. D.; CARVALHO, G. M.; NICOLINO, R. R.; FREITAS, P. M. C.; SILVA, R. O. S. Characterization of *Escherichia coli* in Dogs with Pyometra and the Influence of Diet on the Intestinal Colonization of Extraintestinal Pathogenic *E. coli* (ExPEC). **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 245, 2022.

ZHANG, S.; ABBAS, M.; REHMAN, M. U.; HUANG, Y.; ZHOU, R.; GONG, S.; YANG, H.; CHEN, S.; WANG, M.; CHENG, A. Dissemination of antibiotic resistance genes (ARGs) via integrons in *Escherichia coli*: A risk to human health. **Environmental Pollution**, v. 266, p. 2, nov. 2020.

ZHANG, Y.; TAN, P.; ZHAO, Y.; MA, X. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: intestinal pathogenesis mechanisms and colonization resistance by gut microbiota. **Gut Microbes**, v. 14, n. 1, 2022.

ANEXO A - QUESTIONÁRIO APLICADO AOS TUTORES.

Informações sobre o animal

Nome: _____ Número de identificação: _____

Raça: _____ Idade: _____ Sexo: () F () M

1. Alimentação do animal: () Ração () Comida
2. Tem acesso a rua sozinho? () Sim () Não
3. Costuma passear com o cachorro? () Sim () Não
4. O animal tem contato com outros cães? () Sim, dentro de casa () Sim, cães na rua
() Não
5. Já fez uso de antibiótico? () Sim () Não () Não sabe/lembra
6. O animal tem histórico de diarreia? () Sim () Apresenta diarreia no momento da coleta () Não

Informações sobre o saneamento

1. Como é o abastecimento de água para consumo doméstico na sua residência?
() Água encanada (rede geral de abastecimento – CAESB, SANEAGO, SAAE - Serviço Autônomo de Água e Esgoto, etc.)
() Poço () Outra fonte de captação (Qual? _____)
2. Há caixa d'água na sua residência? () Sim () Não
3. Qual a destinação das águas residuais (esgoto) na sua residência?
() Rede geral de esgoto () Esgotamento a céu aberto
() Fossa rudimentar () Fossa séptica () Outro: _____
4. Após as chuvas, há acúmulo de grande quantidade de água ou inundações próximo a sua residência?
() Sim () Não
5. Há serviço de coleta de lixo na sua residência?
() Sim () Não (Onde é feito o descarte de lixo? _____)
6. Onde é descartado as fezes do animal?
() Lixo () Vaso sanitário () Outro: _____
7. Endereço de moradia:

ANEXO B – CARACTERÍSTICAS DOS CÃES AMOSTRADOS.

ID	Raça	Idade	Sexo	Alimentação	Uso de antib.	Histórico de diarreia
E.1	Shih-tzu	9a	F	R/C	S	N
E.2	Poodle	8a	F	Ração	S	N
E.3	Shih-tzu	10a	M	Comida	S	N
E.4	Dachshund	3a	F	Ração	N	N
E.5	SRD	16a	F	Ração	S	N
E.6	Shih-tzu	7a	F	R/C	N	N
E.7	Maltês	7a	M	Ração	S	S
E.8	SRD	2a	M	R/C	S	S
E.9	Pinscher	14a	F	Ração	S	N
E.10	SRD	11a	F	Ração	S	N
E.11	Shih-tzu	1a	M	Ração	NS	N
E.12	SRD	1a	M	Ração	S	N
E.13	Dachshund	2m	F	Ração	N	S
E.14	Labrador	5a	M	R/C	S	N
E.15	Shih-tzu	13a	F	R/C	S	S
E.16	SRD	5m	F	Ração	N	N
E.17	SRD	7a	M	Comida	S	N
E.18	Golden retriever	4a	M	Ração	N	N
E.19	Shih-tzu	2a	F	Ração	S	N
E.20	SRD	7a	F	Ração	N	N
E.21	Poodle	6a	M	Ração	S	S
E.22	Pinscher	2a	M	R/C	N	N
E.23	Lhasa apso	10a	M	R/C	S	S
E.24	SRD	4m	F	Ração	N	N
E.25	SRD	7a	F	Ração	S	S
E.26	Jack russell terrier	10m	M	R/C	S	S
E.27	Beagle	1a	M	Ração	N	S
E.28	Spitz alemão	3a	F	Ração	N	S
E.29	Shih-tzu	9a	F	Ração	S	N
E.30	Pug	4a	M	R/C	S	S
E.31	Pinscher	8a	M	Ração	NS	N
E.32	Welsh corgi pembroke	3a	M	Ração	S	S
E.33	Fox paulistinha	11a	M	Ração	S	N
E.34	Shih-tzu	12a	M	Ração	S	S
E.35	SRD	8a	M	Ração	S	N
E.36	SRD	8a	M	R/C	S	S
E.37	Buldogue-campeiro	6a	F	Ração	S	N
E.38	American staffordshire terrier	2a	M	R/C	S	N
E.39	SRD	1a	F	R/C	N	S

E.40	SRD	15a	F	Comida	S	N
E.41	Shih-tzu	6m	F	Ração	N	N
E.42	SRD	4a	F	Ração	S	S
E.43	SRD	11a	F	Ração	N	S
E.44	SRD	5a	M	Ração	S	S
E.45	SRD	8a	M	R/C	S	S
E.46	York shire	13a	F	Ração	S	N
E.47	SRD	2a	M	R/C	N	N
E.48	York shire	12a	M	Ração	S	S
E.49	SRD	2a	M	R/C	S	S
E.50	Golden retriever	7a	M	R/C	S	N
E.51	SRD	7a	F	R/C	S	N
E.52	Shih-tzu	5a	M	Ração	S	S
E.53	SRD	4a	F	R/C	S	N
E.54	Border collie	3a	F	Ração	S	S

Legenda: ID – identificação; SRD – sem raça definida; a – anos; m – meses; F – fêmea; M – macho; R/C – ração e comida; antib. – antibióticos; S – sim; N – não; NS – não sabia.

ANEXO C – CARACTERÍSTICAS DO LOCAL DE MORADIA.

ID	Acesso à rua	Passeia	Contato com outros cães	Abastecimento de água	Caixa d'água	Destino de águas residuais	Acúmulo de água ou inundação	Coleta de lixo	Descarte de fezes	Local de moradia
E.1	N	S	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E.2	N	S	Não	Encanada	N	Rede geral de esgoto	S	S	Lixo	Vila Planalto
E.3	N	N	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Água Claras
E.4	N	S	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo e sanitário	Asa Norte
E.5	N	N	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Vaso sanitário	Guará II
E.6	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Núcleo Bandeirante
E.7	N	S	Sim, na rua	Poço artesiano	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Jardim Botânico
E.8	N	S	Sim, na rua	Encanada	N	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E.9	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Cruzeiro Novo
E. 10	N	N	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Águas Claras
E. 11	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede do condomínio	N	S	Lixo	Noroeste
E. 12	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo e sanitário	Noroeste e Taguatinga
E. 13	N	N	Sim, em casa	Encanada	S	Fossa rudimentar	N	S	Lixo	Núcleo Rural Granja do Torto
E. 14	N	N	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Lago Norte
E. 15	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E. 16	N	S	Sim, na rua	Encanada	N	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E. 17	N	S	Não	Encanada	S	Fossa ecológica	N	S	Fica no ambiente (quintal)	Jardim Botânico
E. 18	N	N	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Sobradinho
E. 19	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Sul
E. 20	N	S	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Sul
E. 21	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Vaso sanitário	Asa Sul
E. 22	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Vaso sanitário	Água Claras
E. 23	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Guará I
E. 24	N	N	Não	Encanada	S	Fossa séptica	N	S	Lixo	Sobradinho

E. 25	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Fossa rudimentar	N	S	Lixo	Vila Planalto
E. 26	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo e sanitário	Cruzeiro Novo
E. 27	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	São Sebastião
E. 28	N	N	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Lago Norte
E.29	N	S	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Vaso sanitário	Candangolândia
E.30	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo e sanitário	Cruzeiro Velho
E.31	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Fossa rudimentar	N	S	Lixo	Guará
E.32	N	S	Sim, na rua	Encanada	N	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E.33	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Fossa rudimentar	N	S	Lixo	Sobradinho
E.34	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E.35	S	N	Sim, em casa	Encanada	S	Fossa séptica	N	S	Fica no terreno	Jardim Botânico
E.36	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Jardim Botânico
E.37	N	N	Sim, em casa	Poço artesiano	S	Fossa séptica	N	S	Fica no terreno	Sobradinho
E.38	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Lago Norte
E.39	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E.40	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Noroeste
E.41	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Vaso sanitário	Água Claras
E.42	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E.43	N	S	Sim, na rua	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E.44	N	N	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Caixa de esgoto	Ceilândia
E.45	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Gama
E.46	N	N	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Ceilândia
E.47	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Norte
E.48	N	S	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Caixa de esgoto	Guará
E.49	N	S	Não	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Asa Sul
E.50	N	S	Sim, na rua	Poço	S	Rede geral de esgoto	N	S	Fica no terreno	Incra 9
E.51	N	N	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Valparaíso
E.52	N	N	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Valparaíso
E.53	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Jardim Botânico
E.54	N	S	Sim, em casa	Encanada	S	Rede geral de esgoto	N	S	Lixo	Riacho Fundo

Legenda: ID – identificação; S – sim; N – não.

ANEXO D – RESULTADOS DOS ANTOBIOGRAMAS.

ID	AM	AM	AMP	ASB	ATM	CFE	CPM	CTZ	CRO	ENO	GEN	IMP	MBF	MER	SUT	SUL	TET	TOB
E1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
E2	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S
E3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
E4	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	R	S	S	S	S	R	R	R
E5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
E6	S	S	S	S	S	S	I	S	I	S	R	S	S	S	S	S	S	S
E7	R	R	R	R	I	R	I	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R
E8	S	S	S	S	S	S	I	S	I	S	R	S	I	S	R	R	R	R
E9	S	S	S	S	S	R	I	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R
E10	R	R	R	R	S	R	I	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S
E11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
E12	R	S	R	S	S	R	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
E13	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R
E14	S	S	S	S	R	R	I	S	I	S	R	I	S	I	S	R	S	R
E15	S	S	S	S	S	S	S	I	I	S	R	R	S	S	S	R	R	R
E16	R	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	I	S	S	I	R	R	S
E17	S	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S
E18	S	S	S	S	S	S	R	S	S	I	R	S	S	S	R	R	R	R
E19	S	S	S	S	S	S	I	I	S	R	R	S	R	S	R	R	R	R
E20	R	S	R	S	S	S	I	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R
E21	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
E22	S	S	S	S	S	S	R	I	S	S	R	I	S	I	S	R	R	R
E23	S	S	S	S	S	R	I	S	I	I	R	S	S	S	S	R	S	R
E24	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	I	S	I	R	R	S	R
E25	S	S	S	S	S	R	I	S	S	I	R	I	S	I	S	R	R	R
E26	S	S	S	S	R	R	R	R	R	I	R	S	I	R	R	R	R	R
E27	R	S	R	S	R	S	R	R	R	I	R	S	S	R	S	R	R	R
E28	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R
E29	R	S	R	S	R	S	R	R	R	I	R	I	I	R	S	R	R	R
E30	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R	R	R	R
E31	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	I	S	R	S	R	R	R
E32	R	S	R	S	R	R	R	S	R	I	R	S	S	S	R	R	R	R
E33	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	R	I	S	R	R	R	R	R

E34	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R
E35	R	S	R	S	R	S	R	R	R	S	R	I	S	R	S	R	R	R
E36	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R
E37	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	I	R	R	R
E38	S	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R
E39	R	S	R	R	I	R	R	R	R	I	R	S	S	R	S	R	R	R
E40	S	S	S	S	R	R	R	R	I	S	R	I	S	R	R	R	R	R
E41	S	S	S	S	I	S	R	R	R	I	R	S	S	R	R	R	R	R
E42	R	R	R	R	R	S	R	R	R	I	R	R	S	R	I	R	R	R
E43	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R	R	R	R
E44	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	I	I	R	I	R	S	R
E45	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	R	R	R
E46	S	S	S	S	S	S	R	I	R	S	R	S	S	S	I	R	R	R
E47	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	R	S	I	R	I	R	R	R
E48	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	I	R	R	R
E49	S	S	S	S	I	S	R	R	R	S	R	R	S	I	R	R	R	R
E50	R	S	R	S	I	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R
E51	S	S	R	S	I	R	R	S	R	I	R	R	I	I	S	R	R	R
E52	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S
E53	S	S	S	S	I	S	R	S	I	S	R	I	I	I	S	R	R	R
E54	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	I	I	I	R	R	R	R

Legenda: S – sensível; I – intermediário; R – resistentes; AMO – amoxicilina; AMC - amoxicilina/ácido clavulânico; AMP – ampicilina; ASB - ampicilina/sulbactam; ATM – aztreonam; CFE – cefalexina, CPM – cefepime; CTZ – ceftizoxima; CRO – ceftriaxona; ENO – enrofloxacin; GEN – gentamicina; IMP – imipenem; MBF – marbofloxacin; MER – meropenem; SUT – sulfazotrim; SUL – sulfonamidas; TET – tetraciclina; TOB – tobramicina.