

RESISTÊNCIA BACTERIANA À ENROFLOXACINA EM CISTITE CANINA: AVALIAÇÃO DE 430 CASOS ENTRE 2013 E 2016

Antimicrobial resistance to enrofloxacin in canine cystitis: Evaluation of 430 cases between 2013 and 2016

COSTA, Luciana Albuquerque de Melo;

Faculdade de Jaguariúna

LUCAS JR, Milton Geraldo

Faculdade de Jaguariúna

ACORSI, Elaine Cristina

Faculdade de Jaguariúna

GARRIDO, Lúcia Helena A.

Professora orientadora da Faculdade de Jaguariúna

Resumo: O objetivo do presente estudo é a análise da prevalência de bactérias que acometem cães com cistite bacteriana, bem como seu índice de susceptibilidade e resistência à enrofloxacin. Foram avaliados 430 casos por meio de exames de urocultura e antibiogramas, oriundos de dois laboratórios de patologia da cidade de Campinas/SP, no período de 2013 a 2016. Os isolamentos mais frequentemente encontrados foram de *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp, *Proteus* spp, *Streptococcus* spp, *Enterococcus* spp, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp e *Hafnia alvei*. O índice global de resistência à enrofloxacin foi de 45%, predominantemente por *Staphylococcus* spp ($p < 0,003/67,68\%$), *Escherichia coli* ($p < 0,03/37,20\%$) e *Proteus* spp. ($p < 0,006/34,72\%$). Animais acima de oito anos de idade foram os mais acometidos com cistite bacteriana ($p < 0,007$). Comprovou-se maior prevalência de casos entre as fêmeas ($p < 0,002$), entretanto os índices de resistência foram mais expressivos entre os machos ($p < 0,02$). Concluiu-se que uso indiscriminado e excessivo de antibióticos é uma das principais causas de resistência bacteriana e um desafio de saúde pública multidisciplinar

Palavras-chave: resistência – enrofloxacin – cistite

Abstract: This study aims at assessing the bacterial prevalence in cases of canine cystitis, as well as the rate of antimicrobial susceptibility and enrofloxacin resistance. Four hundred and thirty (430) cases have been scrutinized through urine culture and antimicrobial susceptibility test in two pathology laboratories in Campinas/SP, between 2013 and 2016. The most frequent isolates were *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp, *Proteus* spp, *Streptococcus* spp, *Enterococcus* spp, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp e *Hafnia alvei*. The rate of enrofloxacin resistance was 45%, mainly on account of *Staphylococcus* spp ($p < 0,003/67,68\%$), *Escherichia coli* ($p < 0,03/37,20\%$), and *Proteus* spp. ($p < 0,006/34,72\%$). Animals above eight years old were mostly affected by cystitis ($p < 0,007$). It has been proved that the disease was more prevalent among female dogs ($p < 0,002$); rates of resistance were more significant among male dogs, though ($p < 0,02$). It is conclusive that indiscriminate and

excessive use of antibiotics is one of the major causes of antimicrobial resistance, besides a multidisciplinary Public Health challenge.

Key words: resistance – enrofloxacin – cystitis

INTRODUÇÃO

Doenças inflamatórias e/ou infecciosas da vesícula urinária são conhecidas como cistite, uretrite ou infecção do trato urinário inferior (ITU). Caracterizam-se por presença de bactérias, sangue e células inflamatórias na urina, além da colonização da mucosa uretral, bexiga e ureteres, podendo chegar à pelve renal, túbulos contorcidos e ductos coletores dos rins, se não tratadas adequadamente (RIBEIRO, 2011; CARVALHO et al, 2014).

As infecções do trato urinário inferior são comuns entre os cães e a idade da primeira apresentação varia de 3 meses a 16 anos, com média de 7 anos. Podem ocorrer superficialmente no lúmen vesical, profundamente no parênquima ou em ambos (CHEW et al, 2011). Estima-se que ITUs são diagnosticadas em 14% dos cães que visitam as clínicas veterinárias (SYKES e WESTROPP, 2013).

A infecção bacteriana é resultado de variáveis, como: contaminação fecal da região genital, contato com microorganismos do ambiente (infecção hospitalar), anormalidades anatômicas ou funcionais que afetam o tônus da uretra e da vulva, incontinência de qualquer natureza e dermatite perivulvar ou de prepúcio (GIEG, CHEW, McLOUGHIN, 2008; BARTGES, 2004; LING et al, 2001).

Outros fatores de risco também podem estar associados à patologia: cateterização, vaginoscopia, vaginite, obstrução – de qualquer natureza, incluindo as causas neurogênicas, como as doenças da medula espinal –, administração prolongada de antibióticos que induzem resistência bacteriana, cálculo, uretostomia, glicosúria no caso de *Diabetes mellitus* (NEWMAN, CONFER, PANCIERA, 2009; LING et al, 2001) e altas concentrações de glicocorticóides, em casos de Hiperadrenocorticismismo ou por administração excessiva. (LULICH e OSBORNE, 2004; NELSON e COUTO, 2001).

As manifestações clínicas mais frequentes em cães acometidos com ITU são: polaciúria, estrangúria, disúria com hematúria macro ou microscópica, micção em local inapropriado, urina com odor pútrido, hipertermia (quando a infecção já atingiu o trato urinário superior). Em casos graves de pielonefrite e insuficiência renal, o animal pode

apresentar dor na região renal (flanco), hematúria, e poliúria com polidipsia compensatória (GIEG, CHEW e McLOUGHIN, 2008; KOGIKA e WAKI, 2015). Se o animal apresentar patologias, como *Diabetes mellitus*, neoplasia de vesícula urinária ou Hiperadrenocorticismo, sintomas relacionados a tais condições estarão presentes (KOGIKA e WAKI, 2015).

O diagnóstico da ITU deve se basear em histórico clínico do animal, urinálise com avaliação de sedimento urinário, urocultura e antibiograma (OLIN e BARTGES, 2015). O exame físico pode revelar dor ou espessamento da bexiga à palpação abdominal (GIEG, CHEW e McLOUGHIN, 2008). Odor amoníaco da urina residual na região urogenital, bexiga aumentada e túrgida por obstrução, neoplasia, urolitíase, e deformidades vulvares ou de prepúcio podem estar presentes em casos de ITU (SYKES e WESTROPP, 2013).

Para um tratamento adequado, alguns fatores devem ser observados: (I) evitar drogas já administradas, (II) evitar drogas nefrotóxicas e (III) o fármaco deve ser de fácil administração e possuir alta concentração na urina (BELONE, 2002). Ainda a antibioticoterapia é a opção mais segura e eficaz.

Antibióticos são substâncias químicas – sintéticas ou naturais – desenvolvidas a partir de fungos ou bactérias, capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de patógenos. Diferem entre si quanto às propriedades físicas, químicas, farmacológicas, espectro de ação, mecanismo de ação e toxicidade (ANDRADE et al, 2002). O seu descobrimento representou um grande avanço na terapêutica médica e médica veterinária, pois reduz a morbidade e mortalidade de doenças infecciosas (MOTA et al, 2005).

São divididos em duas categorias de acordo com seu mecanismo de ação: bactericida e bacteriostático. O primeiro destrói as bactérias, enquanto o último impede sua multiplicação, auxiliando o sistema imune do animal, no controle da infecção (OLIVEIRA et al, 2011). As principais classes de antimicrobianos disponíveis são: penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos, macrolídeos, lincosamidas, tetraciclina, polipeptídeos, quinolonas e sulfonamidas (ANDRADE et al, 2002; MELO et al, 2012).

As quinolonas foram identificadas em 1962, com a introdução do ácido nalidíxico na prática clínica. Possuem amplo espectro, com absorção pela via oral e grande capacidade de penetração celular; sua biodisponibilidade é superior a 80% e a eliminação é por via renal e hepática. Com o acréscimo de um átomo de flúor em sua composição, têm-se as

fluorquinolonas, sendo sua principal representante a Enrofloxacin (SILVA e HOLLENBACH, 2010; NEU, 1992; MACHADO et al, 2009).

A enrofloxacin foi aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) em 1989, para uso veterinário em cães, comumente para o tratamento de infecções urinárias (COOKE et al, 2002). Entretanto, seu uso indiscriminado – bem como das outras classes de antimicrobianos – resultou no aparecimento de cepas resistentes; sendo este o principal problema de saúde pública do século XXI (SILVA et al, 2013).

Mecanismos de resistência bacteriana

O termo resistente se refere aos microrganismos que não se inibem pelas concentrações habitualmente alcançadas no sangue ou tecidos do correspondente antimicrobianos ou àqueles que desenvolveram mecanismos de resistência específicos contra eles (MOTA et al, 2005; RODRIGUEZ et al, 2000).

A resistência pode emergir em determinado microrganismo por meio de um processo de seleção Darwinista, a fim de se evadir da destruição de muitas substâncias tóxicas (HOLMES et al, 2016). Pode ser transferida por mecanismos diversos entre microrganismos de uma mesma população ou de uma população diferente, bem como entre espécies animais e a humana (NIJTEN et al, 1993).

Porque o genoma bacteriano é muito dinâmico, pequeno e econômico, a resistência aparece. Em geral, as atividades essenciais são codificadas por apenas um cromossomo e as não-essências – defesa contra drogas e transferência gênica que levam à recombinação – são codificadas por elementos móveis: plasmídeos, transposons e integrons – que não fazem parte do cromossomo (SOUZA, 1998; MOTA, 2005).

Os mecanismos protetores que evoluíram com as bactérias incluem aparatos que impedem a entrada ou forçam a saída da droga, produzem enzimas que destroem ou modificam o antimicrobiano ou até alteram o seu alvo (AMINOV, 2009).

A origem da resistência pode ser intrínseca ou adquirida, i.e de origem genética ou não-genética. A resistência intrínseca é inerente a todos os espécimes da população e o gene que a codifica é cromossômico (MADIGAN et al, 2012; JAWETZ,1991). Um exemplo de um mecanismo de resistência natural é a produção da enzima β -lactamase – existente há milhares de anos – que inativa antimicrobianos β -lactâmicos (AMINOV,2009).

A resistência adquirida envolve uma modificação na composição genética do organismo via mutação do DNA cromossômico ou por aquisição de DNA exógeno (SILVA et al, 2013). Nesse caso, a bactéria adquire resistência momentânea e não é capaz de transmiti-la a sua progênie, por ser fenotípica. Esse mecanismo está relacionado a processos de multiplicação bacteriana necessários para as ações antibacterianas das drogas (JAWETZ et al, 1991; MOTA et al, 2005).

Essas mutações responsáveis pela resistência adquirida ocorrem aleatoriamente e em baixa frequência. Embora as bactérias possam adquirir DNA externo através da infecção por bacteriófagos e por transformação, a mobilização de plasmídeos por contato direto entre células – também chamado de conjugação bacteriana – é a via mais comum de transferência de genes codificadores de resistência antimicrobiana (JACOBY, 2005; SILVA et al, 2013).

Os principais mecanismos de resistência são as bombas de efluxo, redução de permeabilidade, modificação do alvo do antibiótico, inativação do antibiótico, produção de biofilme e transmissão de plasmídeos (MOTA et al, 2005; BARIÉS, 2012; HOLMES et al, 2016).

As bombas de efluxo diminuem o acúmulo da droga no interior da célula, porque os compostos (e.g detergentes e diferentes classes de antimicrobianos) são expurgados da membrana interna para o espaço periplasmático ou diretamente para o meio externo (HORIYAMA et al, 2010; ALVAREZ-ORTEGA et al, 2013).

A redução de permeabilidade da membrana ocorre por perda de porinas – canais de difusão da membrana externa que possibilitam a entrada de pequenos agentes hidrófilos, incluindo moléculas de antibióticos – então, a produção de porinas não-funcionais ou a expressão do gene que resulta em perda de porinas reduz a permeabilidade da membrana, levando à resistência (NIKAIDO e PAGÉS, 2012).

A modificação do alvo do antibiótico pode ocorrer por mutações nas enzimas DNA-girase e DNA topoisomerase IV, principalmente contra as quinolonas, uma vez que essas mutações tornam as enzimas inaptas para a ligação com as quinolonas (GEORGOPAPADAKOU, 1993).

A transmissão de plasmídeos ocorre porque o plasmídeo R (R = resistência) contém um fator de resistência a antibióticos (fator R) e genes FTR (fator de transferência de

resistência) que permitem sua replicação autônoma e a transferência de resistência para outras bactérias, respectivamente (KURYLOWICZ et al, 1981).

Embora todos os mecanismos de resistência mereçam atenção, a inativação de antibióticos se destaca por ser descrita como um problema de saúde global nas comunidades e no serviço de saúde. As bactérias são capazes de produzir enzimas que modificam ou destroem as estruturas químicas dos antimicrobianos, resultando em perda de sua eficácia, independentemente de sua classe (WRIGHT, 1999; SILVA et al, 2013).

Mecanismos de resistência bacteriana às fluorquinolonas

As fluorquinolonas diferem quimicamente das quinolonas de primeira geração por possuírem a combinação de flúor e um grupo piperazinil que aumenta a capacidade de penetração na parede bacteriana. O resultado será uma melhor atividade contra bactérias Gram-negativas e abrangência de algumas espécies Gram-positivas – com melhor perfil farmacocinético. Sua eficácia será mil vezes superior àquela de seu antecessor, o acidonalidíxico (SILVA e HOLLENBACH, 2010; SOUSA, 2007).

Sua atividade antimicrobiana depende do pH do meio em que se encontram, visto que sua atuação é por inibição das enzimas-alvo DNA-girase (codificada pelos genes *gyrA* e *gyrB*) nas bactérias Gram-negativas e DNA topoisomerase IV (codificada pelos genes *parC* e *parE*) nas bactérias Gram-positivas (SARKÖZY, 2001; LI, 2005).

A DNA-girase é responsável pelo super enrolamento negativo e a topoisomerase IV por sua remoção, relaxando a molécula de DNA. Ambas as enzimas são essenciais para o crescimento e divisão das células bacterianas, portanto o bloqueio de sua ação, pelo fármaco, levará a célula bacteriana à morte (FELLI, 2007). Uma das principais vias de entrada das quinolonas na célula é através dos canais porínicos ou, simplesmente, porinas na membrana externa das bactérias (SILVA e HOLLENBACH, 2010; SOUSA, 2007).

Dois mecanismos de resistência às quinolonas e fluorquinolonas são bem documentados: (I) mutações nas enzimas-alvo DNA-girase e DNA-topoisomerase IV e (II) mudanças de permeabilidade de membrana por regulação de bombas de efluxo, levando à diminuição da expressão de porinas da membrana externa; conseqüentemente, o acúmulo intracelular da droga ficará prejudicado (ROBICSEK et al, 2006; LIU et al, 2012; WARREN et al, 2001; GIBSON et al, 2010). Ambos os mecanismos são mutacionais (cromossômicos),

i.e. surgem no indivíduo e são transmitidos verticalmente à progênie (ROBICSEK et al, 2006).

As mutações na enzima DNA-girase ocorrem em uma região dos genes *gyrA* e *gyrB* denominada “região determinante de resistência à quinolona” (QRDR – *Quinolone resistance-determining region*), bem como na QRDR dos genes *parC* e *parE* da enzima topoisomerase IV. Essas mutações dificultam a ligação do fármaco à célula, impedindo a formação do complexo droga-enzima, essencial para a inibição da ação enzimática no DNA da bactéria (COOKE et al, 2002; HOPKINS et al, 2005; GIBSON et al, 2010; LI, 2005).

Mutações nos genes reguladores do sistema de bombas de efluxo *qepA* e *qepB* são responsáveis pela diminuição intracelular da concentração do fármaco e, conseqüentemente, reduzem a susceptibilidade bacteriana às fluorquinolonas (GUILLARD et al, 2015). A superexpressão da bomba de efluxo AcrAB-TolC e a *down regulation* das porinas da membrana externa da *E. coli* levam à diminuição da susceptibilidade bacteriana à fluorquinolonas. Esse mecanismo combinado com as mutações da QRDR induz a resistência de forma efetiva (COHEN et al, 1988; JELLEN-RITTER et al, 2001).

Outro mecanismo encontrado, principalmente em *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *K. pneumoniae*, é o de genes de resistência à quinolonas mediada por plasmídeos (PMQR – *Plasmid-mediated quinolone resistance*) – molécula circular dupla de DNA capaz de se replicar independentemente dos cromossomos, que contém uma série de genes para o estabelecimento de ligações entre células e para transferir DNA do doador para o receptor (HOPKINS et al, 2005; SHAHEEN et al, 2013).

Os genes PMQR *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *aac(6')-Ib-cr* e *qnrS* são responsáveis pela codificação de plasmídeos resistentes que, ao serem transmitidos a outras bactérias, protegem a enzima DNA-girase. A proteção se dá por competição de sítio de ligação: o gene *qnr* se ligará ao DNA da bactéria receptora, não permitindo a ligação da enzima DNA-girase, portanto não haverá a formação do complexo droga-enzima, essencial para a eficácia do antibiótico (ROBICSEK et al, 2006; LIU et al, 2012; SHAHEEN et al, 2013). Os genes *qnr* podem se ligar diretamente à DNA-girase e à topoisomerase IV, o que também inibe a ação da quinolona por minimizar as chances de formação do complexo de clivagem girase-DNA-quinolona (TRAN et al, 2005).

A extensão da proteção conferida pelos genes de PMQR será medida pela concentração inibitória mínima (MIC – *Minimum inhibitory concentration*) de quinolona, uma vez que bactérias receptoras desses genes de PMQR demandam maior MIC (16 a 125 vezes mais) do que aquelas ainda sensíveis ao fármaco (WANG et al, 2004). Plasmídeos recombinantes com genes *qnr* de *E.coli* aumentaram a MIC de ciprofloxacina de 0.003µg/mL para 0.25µg/mL (POIREL et al, 2005).

O biofilme em cepas uropatogênicas de *E. coli* (UPEC – *uropathogenic E.coli*) é capaz de protegê-la contra concentrações altas de antimicrobianos e fagocitose, permitindo sua sobrevivência em ambientes hostis no hospedeiro. A UPEC é capaz de produzir estruturas de biofilme nas paredes da vesícula urinária, formando um reservatório bacteriano que causa infecção persistente. Essas estruturas são complexos multicelulares altamente organizados, caracterizados por colônias aderentes envoltas por uma ampla matriz de exopolissacarídeos (ANDERSON et al, 2004; SOTO et al, 2006; SUMAN et al, 2005; TRAUTNER et al, 2004; COHN et al, 2003).

Oliveira *et al.* reporta, em seu estudo com cães portadores de UPEC, que dos 66 animais avaliados, 31 apresentaram bactérias formadoras de biofilme. A associação da formação de biofilme com a resistência às fluorquinolonas foi significativa. Concluiu-se que essa é uma causa importante para a falha de tratamento de cães com ITUs, pois tais estruturas foram responsáveis pela formação de reservatórios bacterianos na bexiga desses animais, levando à infecção recorrente (OLIVEIRA et al, 2014; SUMAN et al, 2005).

Objetivo

O objetivo deste artigo é avaliar a prevalência bacteriana nos casos de cistite em cães e seu índice de resistência à Enrofloxacina. A análise foi realizada a partir de urocultura e antibiograma de 430 animais com idades variadas e de ambos os sexos, no período de 2013 a 2016.

Materiais e Métodos

A partir do banco de dados dos laboratórios de patologia clínica VETPAT e CEVET, na cidade de Campinas/SP, foram selecionados os exames de urocultura e antibiograma de cães de ambos os sexos e de diversas idades com suspeita clínica de cistite bacteriana. Este estudo foi delineado de acordo com as normas de bem-estar animal preconizadas por *Canadian Council on Animal Care in Science* (CCAC).

Os casos foram selecionados de acordo com a ficha cadastral disponível em cada exame laboratorial com os seguintes dados elencados: idade e sexo; tipo de bactéria isolada na urocultura e sua sensibilidade e/ou resistência ao antibiótico enrofloxacina, a partir do antibiograma.

Com base nos dados coletados, os animais foram classificados em machos e fêmeas; e separados nas seguintes faixas etárias: de 0 a 12 meses; 13 meses a 4 anos e 11 meses; 5 a 8 anos e acima de 8 anos. Dessa forma, avaliaram-se filhotes, jovens, adultos e idosos. O período do estudo abrangeu os anos de 2013 a 2016, especificando-se o número de casos/ano. A bactéria isolada em cada exame de urocultura foi especificada, bem como a susceptibilidade e/ou resistência, por meio de antibiograma, da cepa ao antimicrobiano enrofloxacina, objeto deste estudo.

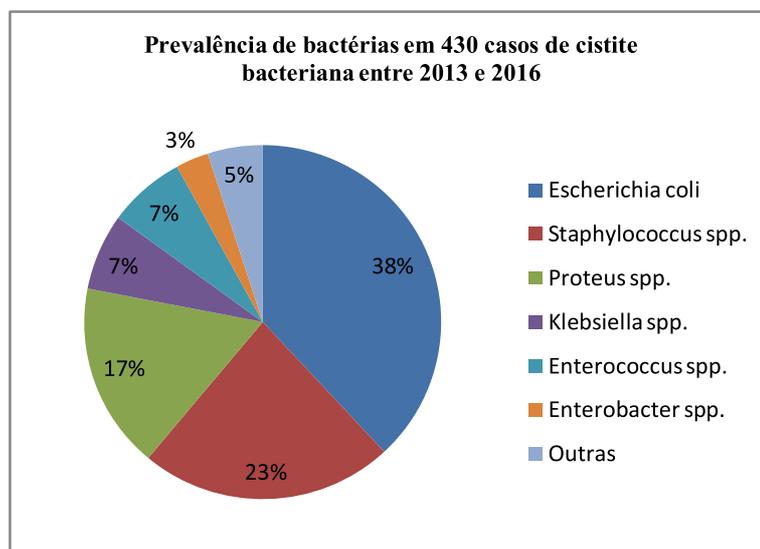
Determinou-se que as bactérias seriam classificadas a partir de seu gênero, devido ao número de casos elencados, tendo assim, uma visão ampla dos principais microrganismos presentes nas infecções urinárias dos cães.

A análise estatística foi obtida por regressão logística com o programa *Statistical Analysis Software (SAS Institute, Cary, NC, USA), Mixed Module – Glimmix Procedures*, versão 9.3 e determinou-se, para análise de significância, valor de $p \leq 0,05$.

Resultados

Foram avaliados 430 casos de cistite bacteriana em cães com média de idade de 8,6 anos, sendo a média de 8,27 para as fêmeas e 9,16 para machos. A prevalência de bactérias observada foi de: *Escherichia coli* (38,14%), *Staphylococcus* spp. (23,02%), *Proteus* spp.(16,74%), *Klebsiella* spp. (7,44%), *Enterococcus* spp. (6,74%), *Enterobacter* spp. (3,26%), *Streptococcus* spp, *Serratia* spp, *Pseudomonas* spp e *Hafnia alvei* que, somadas, representam 4,41% do total de casos (gráfico 1). Observou-se que 45% dos casos de cistite bacteriana foram causadas por microrganismos resistentes ao antibiótico enrofloxacina.

Gráfico 1: Prevalência de bactérias isoladas em urocultura.



Na tabela 1, observam-se o número de casos relatado em cada faixa etária; a classificação de sexo e de idade e a média de idade dos animais do estudo.

Tabela 1: Distribuição dos casos de infecção bacteriana de acordo com a faixa etária e média de idade dos animais

Faixa etária	N de casos	N de machos	N de fêmeas
0 – 12 meses	23	10	13
13 meses – 4 anos e 11 meses	53	23	30
5 – 8 anos	119	45	74
>8 anos	235	114	121
Média global da idade (em anos)	8,64	9,16	8,27

A prevalência bacteriana nos animais entre 0 a 12 meses foi de 43,48% para *Escherichia coli*, 17,39% para cada uma das bactérias *Staphylococcus spp*, *Proteus spp* e *Klebsiella spp*. e 4,35% para *Enterococcus spp*.

Pacientes com faixa etária entre 13 meses a 04 anos e 11 meses de idade apresentaram infecção das vias urinárias predominantemente por *Escherichia coli* em 33,96% dos casos e *Staphylococcus spp*. em 35,85%. Seguidos por 11,32% dos casos por *Proteus spp*.; 9,43% dos casos por *Enterococcus spp* e 9,44% representados por *Pseudomonas spp*., *Klebsiella spp*., *Enterobacter spp* e *Morganella* juntas.

Na faixa etária entre 5 e 8 anos de idade, a predominância foi *Escherichia coli* 34,45%, *Proteus* spp 25,21% e *Staphylococcus* spp. 21,85%. As infecções por *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp. e *Serratia* spp. somaram 18,48% do total de casos para essa faixa etária.

Dentre os cães com idade superior a 8 anos, observou-se que a prevalência bacteriana seguiu o mesmo padrão já descrito. A infecção urinária por *Escherichia coli* representou 40,43% dos casos analisados contra 21,28% por *Staphylococcus* spp. e 13,62% por *Proteus* spp. Em menor número, com 24,69% do total de casos para essa faixa etária, observou-se infecção por *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp.; *Enterobacter* spp.; *Pseudomonas* spp.; *Serratia*; *Streptococcus* spp. e *Hafnia alvei*.

A partir da prevalência bacteriana nos casos de cistite coletados, avaliou-se seu índice de resistência à enrofloxacin. A resistência ao antibiótico pode ser visualizada no exame de antibiograma por meio da formação de halos em placa Petri, cuja amostra de urina foi colocada em meio de cultivo celular e com o antibiótico, conforme a figuras 1.



Figura 1: Halo de crescimento bacteriano em placa BioMérieux® indicativo de resistência ao antibiótico enrofloxacin. A amostra biológica foi semeada em ágar sangue e ágar MacConkey com crescimento bacteriano *overnight*. Antibiograma realizado por difusão do disco em ágar Müller-Hinton. Os discos de enrofloxacin são da marca SENSIFARVET®. (Fonte: Arquivo pessoal).

Do total de cães avaliados, 51,56% dos machos apresentaram microrganismos resistentes. Dentre as fêmeas, 39,49% foram classificadas com bactérias resistentes à enrofloxacin, como demonstra a tabela 2:

Tabela 2: Distribuição da resistência bacteriana de acordo com sexo.

Sexo	N de casos	N de casos resistentes	% de resistência	Desvio padrão	P value (<0.05)
Macho	192	99	51,56	0.04	0.012
Fêmea	238	94	39,49	0.03	0.012

A avaliação de sensibilidade ao antimicrobiano realizada por meio de antibiograma mostrou que as principais bactérias resistentes a enrofloxacin nas diferentes faixas etárias foram, em ordem de importância, *Staphylococcus* spp. ($p < 0.003$), *Proteus* spp. ($p < 0.006$) e *Escherichia coli* ($p < 0.03$).

Dentre os casos correspondentes às infecções causadas por *Escherichia coli*, 37,20% das cepas foram resistentes. A distribuição foi de 40,90% para machos e 34,70% para fêmeas.

A bactéria *Staphylococcus* spp contou com 67,68% das cepas resistentes à enrofloxacin. Divididos os casos entre machos e fêmeas, 75,43% dos machos e 57,14% das fêmeas apresentaram bactérias resistentes.

Das infecções causadas por *Proteus* spp., 34,72% dos microrganismos isolados foram resistentes. Dos machos diagnosticados com a bactéria, 44,44% foram resistentes, e das fêmeas, 31,48% apresentaram cepas resistentes à enrofloxacin, conforme descreve o gráfico 2

Gráfico 2: Porcentagem de resistência de acordo com o tipo de bactéria e o sexo do paciente.

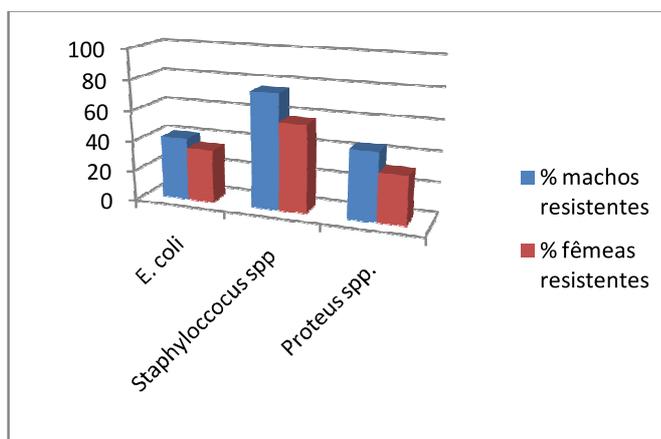
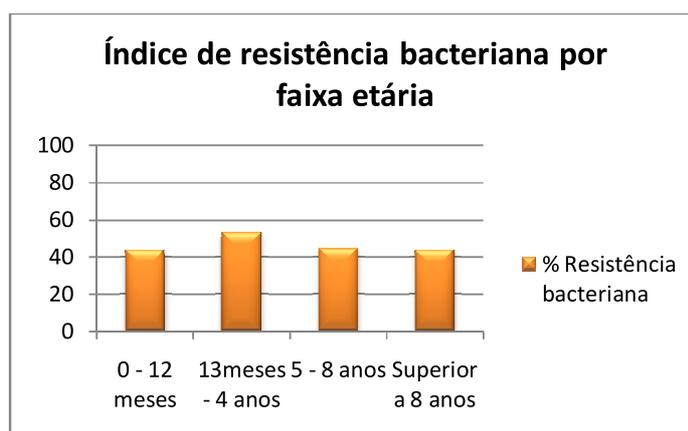


Tabela 3: Principais isolamentos na urocultura de bactérias resistentes.

Bactéria Resistente	N total	N de machos resistentes	% de machos resistentes	N de fêmeas resistentes	% de fêmeas resistentes
E. coli	164	27	40,90	34	34,70
Staphylococcuspp.	99	43	75,43	24	57,14
Proteusspp.	72	08	44,44	17	31,48

Animais de 0 a 12 meses de idade obtiveram 43,48% de resistência e entre 13 meses e 04 anos e 11 meses de idade, 52,83%. Nas faixas etárias entre 05 a 08 anos 44,54% e, acima de 8 anos de idade, 43,40% dos pacientes apresentaram microrganismos resistentes. A distribuição de casos de resistência nas diferentes faixas etárias está no gráfico 3:

Gráfico 3 : Índice de resistência bacteriana por faixa etária



A partir dos dados obtidos neste estudo é possível inferir que a cistite bacteriana é mais frequente em animais com idade superior a oito anos ($p < 0.007$) com prevalência da bactéria *E. coli*, em aproximadamente 40,42% dos casos. As fêmeas são mais susceptíveis à infecção em relação aos machos ($p < 0.002$), entretanto são eles os mais acometidos por microrganismos resistentes ao longo do período analisado ($p < 0.02$).

Discussão

As cistites e infecções do trato inferior estão entre as condições clínicas mais frequentes na clínica de pequenos animais (PAPINI et al, 2006) e representam uma das causas mais comuns de antibioticoterapia – com cerca de 14% de todos cães diagnosticados, ao menos uma vez em sua vida (LING et al, 2006; WINDAHL et al, 2014).

As seis bactérias isoladas neste estudo são os patógenos mais comumente associados às infecções urinárias em cães são: *Escherichia coli* (38,14%), *Staphylococcus* spp. (23,02%), *Proteus* spp. (16,74%), *Klebsiella* spp. (7,44%), *Enterococcus* spp. (6,74%), *Enterobacter* spp. (3,26%), *Streptococcus* spp, destacando-se *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. e *Proteus* spp.

Wong *et al* (2015) demonstra, em seu estudo, uma prevalência de *E. coli* (52,5%) e de *Staphylococcus* spp (13,6%) em infecções urinárias em cães. Em outro estudo realizado por Carvalho *et al* (2014), a prevalência se repetiu com 53% dos casos isolados com *E. coli*, seguida por 34% com *Staphylococcus* spp. e, *Proteus mirabilis*, com um índice de 16%. Chew (2012) relata alta incidência dessas bactérias em sua análise: 53% para *E. coli*, para *Staphylococcus* spp. 9%, enquanto que *Proteus* spp. contou com 8%. A alta prevalência dessas bactérias também foi reportada por Ball *et al* (2008), com *E. coli*, *Staphylococcus* spp. e *Proteus* spp. com 44,1%, 11,6% e 9,3% do total de casos, respectivamente.

Atualmente, a atenção voltada ao bem-estar dos animais de companhia resultou em um aumento do investimento em cuidados veterinários com prevenção e tratamento de doenças infecciosas e, conseqüentemente, no aumento da expectativa de vida desses animais (GUARDABASSI *et al*, 2004). Com maior expectativa de vida e melhores cuidados veterinários, espera-se que os cães apresentem casos de cistite e ITU em idade mais avançada (LING *et al*, 2001).

Neste estudo, a média de idade dos animais foi de 8.6 anos, sendo 8,27 anos para as fêmeas e 9,16 anos para os machos; corroborando o estudo de Ling *et al* (2001), em que a médias para machos foi de 8,1 anos e para fêmeas de 7,7 anos. Outros estudos de susceptibilidade antimicrobiana para ITU também apresentam média de idade superior a 6 anos (WONG *et al*, 2015; HALL *et al*, 2013).

A resistência bacteriana é uma realidade global há, pelo menos, seis décadas e ainda é uma preocupação no que se refere à terapia das doenças infecciosas (NEU *et al*, 1992; LI, 2005). Os primeiros casos de multi-resistência surgiram no final dos anos 1950 e se tornaram um problema na clínica médica já na década seguinte (TENOVER *et al*, 1996). Um dos principais problemas enfrentados pelos serviços de saúde, uma vez que existe um número reduzido de novos agentes antimicrobianos inseridos na clínica médica e a resistência bacteriana dificulta e prolonga o tratamento de diversas doenças (BUTLER *et al*, 2006).

As principais causas do crescimento de resistência a antimicrobianos advêm do uso indiscriminado ou mau uso dos antibióticos (COSTELLOE et al, 2010); do uso excessivo em situações que a infecção bacteriana não é comprovada, da administração equivocada, em doses e na duração inapropriadas (WEESE et al, 2006); do excessivo uso do mesmo tipo de agente antimicrobiano para prevenção de infecções cirúrgicas (CHANG et al, 2015) e da terapia empírica sem a identificação correta da bactéria e teste de susceptibilidade adequado (GUARDABASSI et al, 2004).

O uso extensivo de antimicrobianos nos animais de produção é motivo de investigação a fim de se estabelecer sua relação com o aumento no número de casos de resistência bacteriana (PAPINI et al, 2006).

Em contraste, há poucos dados sobre a resistência bacteriana em animais domésticos e suas implicações para o ser humano (GUILLARD et al, 2015). Uma vez que são mantidos em domicílio e a inter-relação de resistência microbiana entre homens e animais já foi confirmada (PAPINI et al, 2006; DAVIES et al, 1978; LOW et al, 1988), a avaliação do uso de antimicrobianos é importante, pois esses animais de companhia podem se tornar reservatórios de bactérias multi-resistentes e induzirem a transmissão cruzada entre espécies (KURAZONO et al, 2003; THOMPSON et al, 2011).

Sabe-se que cepas de *E. coli*, causadoras de ITU e cistite em cães, são filogeneticamente relacionadas à *E. coli* extra-intestinal patogênica humana (ExPEC) e possuem genes virulentos característicos dos isolamentos clínicos humanos (JOHNSON et al, 2001a; STARCIC et al, 2002). Mais de 15% dos depósitos fecais no ambiente de cães apresentam cepas de *E. coli* intimamente ligadas aos clones virulentos de EXPEC (JOHNSON et al, 2001b)

O contato próximo entre homens e seus animais de companhia favorece a transmissão de bactérias por contato direto (lambadura, feridas, mordeduras, etc.) e pelo ambiente doméstico (contaminação de alimentos, utensílios, mobília, etc.). Crianças apresentam risco elevado, pois seu contato físico com os animais é maior (chão, carpetes, etc.) (GUARDABASSI et al, 2004; SILVA et al, 2013).

Embora a autorização de uso das fluorquinolonas em animais de companhia seja recente (década de 90), a resistência bacteriana a essa classe de antimicrobianos é emergente em cães e gatos (MARTIN et al, 2000). Um estudo conduzido em um hospital veterinário, nos

EUA, apontou o aumento de resistência bacteriana à enrofloxacina, em casos de ITU isolados com *E. coli*, após extensivo uso do fármaco nos anos de 1995 e 1996 (COOKE et al, 2002).

Neste estudo, o índice de resistência à enrofloxacina atingiu 45%, em conformidade com estudos anteriores, em que se demonstra a redução de eficácia do fármaco utilizado como primeira opção no tratamento de ITU e cistite (HALL et al, 2013).

Em estudo conduzido na Itália, a frequência de resistência às fluorquinolonas, principalmente de *E. coli*, *Proteus* spp. e *Staphylococcus* spp, se mostrou alta, chegando a 31,88%, 41,67% e 42,11% dos casos, respectivamente (MARQUES et al, 2016). Cruz *et al* reportou um índice de resistência bacteriana à enrofloxacina de 44,44%, em *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* spp., *Proteus* spp, *Klebsiella* spp., *Enterobacter cloacae*, *Pasteurella* spp. e *Hafnia alvei*.(CRUZ et al, 2012). Segundo Ling *et al*(2006), os níveis de resistência às quinolonas chegaram a 40% dos isolados de *E. coli* em Hong Kong.

Os estudos de Papini *et al* (2006) demonstram as mesmas tendências de resistência à enrofloxacina quando comparadas com os dados apresentados neste trabalho: 53,84% para *E. coli*, enquanto que *Proteus* spp. e *Staphylococcus* spp. contaram com 86,48% e 46,66% do total de casos. A conclusão do estudo é que 69,29% de todos os uropatógenos avaliados foram resistentes à enrofloxacina e, portanto, não seriam eficazes na terapia de cães com ITU.

Couto *et al* (2016) comprova o alto índice de resistência à enrofloxacina (40,7%) em cães, com idade superior a 6,8 anos, isolados com *Staphylococcus* spp. Chang *et al* (2015) documenta que a incidência de *E. coli* resistente à enrofloxacina apresentou múltiplos mecanismos, previamente descritos neste trabalho, como: mutações nos genes cromossômicos codificadores de DNA-girase e topoisomerase IV, mecanismos PMQR e bombas de efluxo.

A prevalência de cistites em fêmeas foi observada neste trabalho, bem como em estudos anteriores. Cohn *et al* (2003) relata que fêmeas castradas representaram 46,5% dos casos de ITU, enquanto que as inteiras somaram 18,4% do total analisado contra 16,3% de machos castrados e 21,4% dos inteiros. Marques *et al* (2016) reporta uma prevalência de 61,41% de fêmeas diagnosticadas com ITU, com média de idade de 8,7 anos e Ling *et al* (2001) relatou uma prevalência de 52,2% de fêmeas diagnosticadas com ITU.

Os fatores de risco que aumentam a prevalência de ITU e cistite em fêmeas caninas incluem: incontinência urinária, presença concomitante de vaginite, esterilização cirúrgica

(OSH), histórico recente de administração de corticosteróides e antibióticos, cateterização, vaginoscopia, infecções de trato reprodutivo (piometra e distocias), além das afecções sistêmicas, como Diabetes, Hipotireoidismo e Hiperadrenocorticismo (FRESHMAN et al, 1989; BIERTUEMPFEL et al, 1981; IHRKE et al, 1985).

Apesar da prevalência maior de cistite ter sido observada nas fêmeas caninas, o índice de resistência bacteriana foi maior em machos, em acordo com Cohn *et al* (2003), que demonstra que infecções em machos tendem a ser mais resistentes que em fêmeas. Isso provavelmente ocorre porque as infecções em machos estão frequentemente associadas a mecanismos de proteção defeituosos e repetidos cursos de tratamento com antimicrobianos (COHN et al, 2003; POLZIN et al, 1999).

E. coli e *Proteus* spp. têm um papel importante nos casos crescentes e na disseminação da resistência a antimicrobianos, potencialmente adquirindo genes determinantes de resistência e atuando como reservatórios para tais genes (REUBEN et al, 2013).

Em estudo conduzido por Schultz *et al*, comprovou-se a presença de uma nova ilha genômica multi-droga resistente denominada PGI1 (*Proteus genomic island 1*) em cepas de *Proteus mirabilis*, combinada com a SGI1 (*Salmonella genomic island 1*) em cães, na França. Concluiu-se que as cepas de *Proteus mirabilis* positivas para SGI1/PGI1 sugerem aquisição horizontal entre homens e animais de elementos MDR (*multidrug resistance*), como plasmídeos (SCHULTZ et al, 2015).

O crescente uso de fluorquinolonas em animais de companhia nos últimos anos levou ao aumento da frequência de resistência bacteriana. A fim de se evitar um aumento ainda mais expressivo, essa classe terapêutica não deve ser utilizada como primeira opção no tratamento de ITU, já que os índices de resistência em *Staphylococcus* spp. chegam a 52,9% dos casos (PENNA et al, 2010).

A Organização Mundial de Saúde Animal preconiza que os médicos veterinários devem adotar estratégias para tentar reduzir a resistência a antimicrobianos, portanto informações atualizadas sobre a etiologia e a prevalência de bactérias resistentes são cruciais (OIE, 2015; MARQUES et al, 2016).

Regulamentações mais restritivas e constante monitoramento da prescrição de antimicrobianos e da ocorrência de resistência bacteriana em animais de companhia são

estratégias eficientes já adotadas em países, como Dinamarca e Suécia (MARQUES et al, 2016). A limitação do uso de antimicrobianos diminui a pressão de seletividade bacteriana, i.e., as cepas sensíveis excedem as resistentes quando possuem genes determinantes de resistência não é mais vantajoso para a bactéria (ANDERSON et al, 2011).

Alternativas ao tratamento de ITU e cistite em cães englobam vacinas, suco/extrato de *cranberry*, probióticos e inibidores de adesão e colonização bacteriana (GUAY, 2009), mas com poucos estudos comprobatórios de sua eficácia (FREITAG et al, 2008). Enzimas líticas de bacteriófagos foram testadas no tratamento de infecções bacterianas no sangue e em superfícies de mucosas, sem alterar a flora natural do animal, com resultados *in vitro* interessantes (WAGENLEHNER e NABER, 2006).

A abordagem *One Health* (Uma única saúde), proposta por *One Health Sweden* – organização que conta com a colaboração de pesquisadores em zoonoses e em resistência a antimicrobianos, de universidades e de organizações governamentais, que visa ao sinergismo de médicos, médicos veterinários, biólogos moleculares, ecologistas e químicos (ONE HEALTH SWEDEN, 2016). Surgiu em resposta ao desenvolvimento da resistência bacteriana, pois animais e seres humanos compartilham o mesmo ambiente (CORDOBA et al, 2015).

Defini-se como um esforço colaborativo interdisciplinar para se obter excelência de saúde para animais, pessoas e ambiente; ao se estudar e controlar os fatores de risco que podem desencadear doenças na confluência de pessoas e animais em seu ambiente de interação (AVMA, 2008). A figura 3 mostra o gráfico *One Health Umbrella*, desenvolvido pela *One Health Sweden* em colaboração com *One Health Initiative Autonomous pro Bono team*.

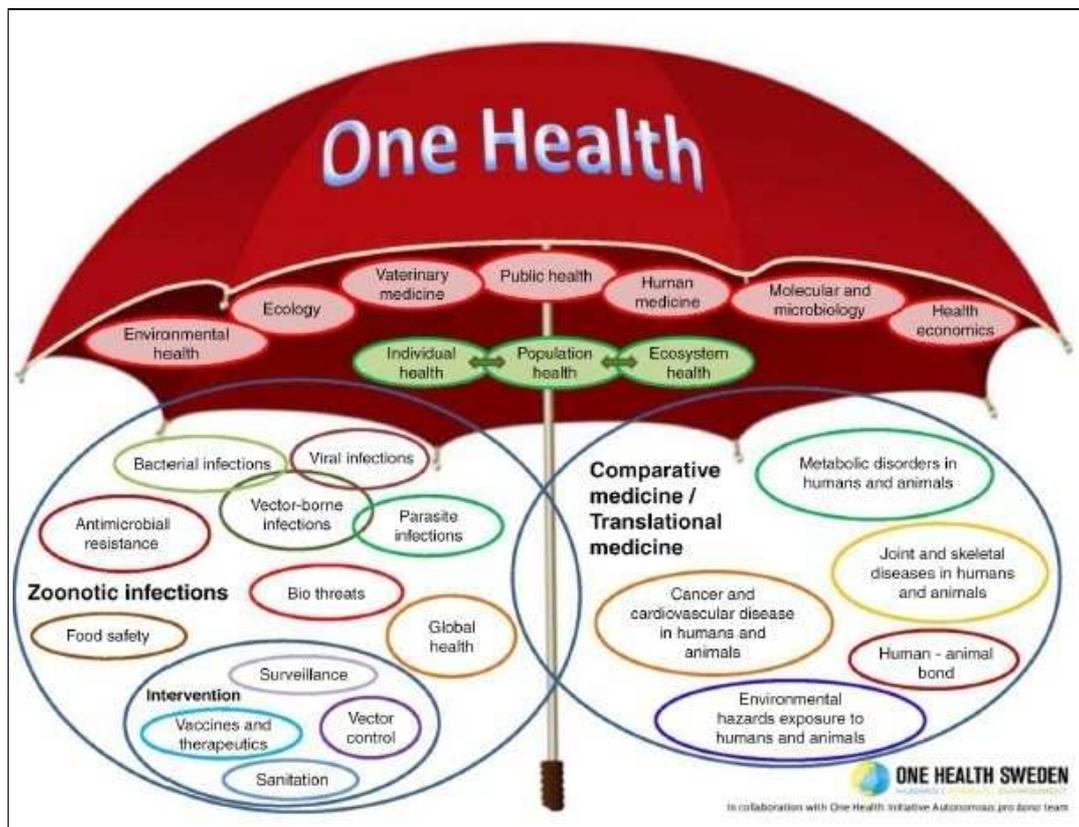


Figura 3 - Gráfico *One Health Umbrella* desenvolvido pela *One Health Sweden* em colaboração com *One Health Initiative Autonomous pro Bono team*. Disponível em: <http://www.onehealthinitiative.com/news> .

A aplicação clínica dos princípios da abordagem *One Health*, como: estratégias de diagnóstico validadas, integração maior médico-tutor, cooperação e coordenação entremédicos e médicos veterinários para identificar os desafios do processo diagnóstico, implementação de práticas intervencionistas comuns a médicos e médicos veterinários poderiam, portanto, promover o uso racional de antibióticos em animais e humanos (LERNER et al, 2015; CORDOBA et al, 2015).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados coletados neste estudo mostram o quão preocupante são os índices de resistência bacteriana à enrofloxacina, nos casos de cistite bacteriana em cães. É necessário maior número de estudos sobre esse tema em animais de companhia, haja vista sua proximidade com o ser humano e a possibilidade de contaminação cruzada entre espécies.

Métodos alternativos de tratamento devem ser explorados, uma vez que diminuir a prevalência de resistência bacteriana se tornou um desafio de saúde pública global.

Nota de Agradecimento: Agradecemos à profa. orientadora Lúcia Helena Garrido por sua diligência e paciência. Agradecemos ao médico veterinário, Felipe Sueiro, à bióloga Nathália Grazzia, à farmacêutica-bioquímica Me. Ana Lúcia Saraiva Gonçalves e a toda equipe do Laboratório de Análises Clínicas VETPAT. Aos colaboradores do Centro de Especialidades Veterinárias CEVET liderados pelos médicos veterinários Carolina e Sérgio Barsotti que nos forneceram o material de pesquisa. Ao dr. Alexandre Henrily de Souza, médico veterinário que possibilitou a realização, bem como a revisão da análise estatística presente neste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- II AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. p.76, 2008. Schaumburg. One Health Initiative Task Force. One Health: a new professional imperative.
- ALVAREZ-ORTEGA, C.; OLIVARES, J.; MARTINEZ, J.L. RND multidrug efflux pumps: what are they good for? **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. 7, p. 1-11, 2013.
- AMINOV, R.I. The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. **Environ. Microbiol.**, v. 11, p. 2970-88, 2009.
- ANDERSON, G.C; MARTIN, S.M.; HULTGREN S.J. Host subversion by formation of intracellular bacterial communities in the urinary tract. **Microb. Inf.**, v. 6, p. 1094-1101, 2004.
- ANDRADE, S.F.; GIUFFRIDA, R.; RIBEIRO, M.G. Quimioterápicos, Antimicrobianos e Antibióticos. In: ANDRADE, S.F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 2ª ed. São Paulo, Roca, 2002. Cap. 3, p. 13-56.
- BALL, K.R; RUBIN, J.E; CHIRINO-TREJO, M.; DOWLING, P. Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Teaching Hospital, 2002 – 2007. **Can Vet J.**, v. 49, p. 985-990, 2008.
- BARIE, P.S. Multidrug-resistant organisms and antibiotic management. **Surgical Clinics North America**, v. 92, n.2, p. 345-391, 2012.
- BELONE, S.N.E. Terapêutica do sistema renal em pequenos animais. In: ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2002. Cap. 14. p. 285-295.
- BIERTUEMPFEL, B.A; LING, G.V; LING, G.A. Urinary tract infection resulting from catheterization in healthy dogs and cats. **Journal American Veterinary Association**, v. 178, p.989-991, 1981.
- BUTLER, C.C; HILLIER, S.; ROBERTS, Z.; DUNSTAN, F.; HOWARD, A.; PALMER, S. Antibiotic resistant infections in primary care of symptomatic for longer and increase workload: outcomes for patients with *E. coli* UTIs. **British Journal of General Practice**, v. 56, p. 686-92, 2006.
- CARVALHO, V.M; SPINOLA, T.; TAVOLARI, F. et al. Infecções do trato urinário (ITU) de cães e gatos: etiologia e resistência aos antimicrobianos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 34 (1): 62-70, janeiro de 2014.
- CHANG, S.K; LO, D.Y; WEI, H.W; KUO, H.C. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from canine urinary tract infections. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 77, no. 1, p. 59-65, 2015.
- CHEW, D.J; DiBARTOLA, S.P; SCHENCK, P.A. Cystitis and urethritis: urinary tract infection. In: **Canine and feline nephrology and urology**. 2ed. Cap. 8. p. 240-271. 2011
- CHEW, D.J; WESTROPP, J.L. Problem urinary tract infections. In: ACVS VETERINARY SYMPOSIUM PROCEEDING, 351-362. 2012. Germantown, MD.
- COHEN, S.P.; McMURRY, L.M.; LEVY, S.B. *marA* locus causes decreased expression of OmpF porin in multiple-antibiotic-resistant (Mar) mutants of *Escherichia coli*. **J. Bacteriol.** v.170, p.5416-5422, 1988.
- COHN, L.A; GARY, A.T; FALES, W.H; MADSEN, R.W. Trends in fluorquinolone resistance of bacteria isolated from canine urinary tracts. **J Vet Diagn Invest**, v.15, p. 338-343, 2003.
- COOKE, C.L.; SINGER, R.S.; JANG, S.S.; JANG, S.S.; HIRSH, D.C. Enrofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from dogs with urinary tract infections. **JAVMA**, v. 220, n.2, p. 190-192, 2002.
- CORDOBA, G.; SORENSEN, T.; HOLM, A.; BJORNVAD, C.R; BJERRUM, L. Exploring the feasibility and synergistic value of the One Health approach in clinical research: protocol for a prospective

- observational study of diagnostic pathways in human and canine patients with suspected urinary tract infection. **Pilot and Feasibility Studies**, v. 1, p. 38, 2015.
- COSTEOLLE, C.; METCALFE, C.; LOVERING, A.; MANT, D.; HAY, A.D. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 340, c2096 doi:10.1136/bmj.c2096, 2010.
- COUTO, N.; MONCHIQUE, C.; BELAS, A.; MARQUES, C.; GAMA, L.T.; POMBA, C. Trends and molecular mechanisms of antimicrobial resistance in clinical *Staphylococci* isolated from companion animals over a 16 year period. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, no. 6, p. 1479-1487, 2016.
- CRUZ, A.R.; PAES, A.C.; SIQUEIRA, A.K. Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas isoladas de cães frente a antimicrobianos. **Veterinária e Zootecnia**, v.19, no. 4, p. 601-610, dez. 2012.
- DAVIES, M.; STEWART, P.R. Transferable drug resistance in man and animals: genetic relationship between R-plasmids in enteric bacteria from man and domestic animals. **Australian Veterinary Journal**, v. 54, no. 11, p. 507-512, nov. 1978.
- FELLI, V.M.A. *Quinolonas Antibacterianas*. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, 2007. 15p. [Apostila – Química Farmacêutica I]. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/Ensino/Graduacao/Disciplinas/Exclusivo/Inserir/Anexos/LinkAnexos/QUINOLONAS>
- FREITAG, T.; SQUIRES, R.A.; SCHMID, J. Naturally occurring bacteriophages lyse a large proportion of canine and feline uropathogenic *Escherichia coli* isolates in vitro. **Research in Veterinary Science**, v. 85, p. 1-7, 2008.
- FRESHMAN, J.; REIF, J.S.; ALLEN, T.A. Risk factors associated with urinary tract infection in female dogs. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 7, p. 59-67, 1989.
- FORRESTER, S.D.; TROY, G.C.; DALON, M.N.; HUFFMAN, J.W.; HOLTZMAN, G.; Retrospective evaluation of urinary tract infection in 42 dogs with hyperadrenocorticism or diabetes mellitus or both. **Journal of Veterinary Medicine**. 1999;6:557-60.
- GEORGOPAPADAKOU, N.H. Penicillin-binding proteins and bacterial resistance to beta-lactams. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 37, n.10, p.2045-2053, 1993.
- GIBSON, J.S.; COBBOLD, R.N.; KYAW-TANNER, M.T.; HEISIG, P.; TROTT, D. Fluoroquinolone resistance mechanisms in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from extraintestinal infections in dogs. **Veterinary Microbiology**, v. 146, p. 161-166, 2010.
- GIEG, Jennifer; CHEW, Dennis J.; MCLOUGHLIN, Mary A.. Doenças da Bexiga. In: BIRCHARD, Stephen J.; SHERDING, Robert G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais**. 3. ed. São Paulo: Roca, Cap. 79. p. 925-926.2008
- GUARDABASSI, L.; SCHWARZ, S.; LLOYD, D.H. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 54, p. 321-332, jul. 2004.
- GUAY, D.R. Cranberry and urinary tract infections. **Drugs**, v. 69, p. 775-807, 2009.
- GUILLARD, T.; JONG, A de.; LIMELETTE, A.; LEBREIL, A.L.; MARDOUX, J.; CHAMPS, C de; the ComPath Study Group. Characterization of quinolone resistance mechanisms in *Enterobacteraceae* recovered from diseased companion animals in Europe. **Veterinary Microbiology**. Articles in Press. 2015.
- HALL, J.L.; HOLMES, M.A.; BAINES, S.J. Prevalence and antimicrobial resistance of canine urinary tract pathogens. **Veterinary Record**, doi: 10.1136/vr.101482, dez. 2013.
- HOLMES, A.H.; MOORE, L.S.P.; SUNDSFJORD, A.; STEINBAKK, M.; REGMI, S.; KARKEY, A.; GUERIN, P.J.; PIDDOCK, L.J.V. Antimicrobials: access and sustainable effectiveness 2. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, v. 387, p. 176-187, 2016.
- HOPKINS, K.L.; DAVIES, R.H.; THRELFALL, E.J. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: Recent developments. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, p. 358-373, 2005.
- HORIYAMA, T.; YAMAGUCHI, A.; NISHINO, K. TolC dependency of multidrug efflux systems in *Salmonella enteric* serovar Typhimurium. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n.7, p.1372-1376, 2010.
- IHRKE, P.J.; NORTON, A.L.; LING, G.V.; STANNARD, A.A. Urinary tract infection associated with long-term corticoid administration in dogs with chronic skin disease. **Journal American Veterinary Med Association**, v. 186, p. 43-46, 1985.
- JACOBY, G.A. Mechanisms of resistance to quinolones. **Clinical Infectious Diseases**, v. 15, n.41, p. 120-126, 2005. Supplement, 2.
- JAWETZ, E. et al. **Microbiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 519 p.
- JELLEN-RITTER, A.S.; KERN, W.V. enhanced expression of the multidrug efflux pumps AcrAB and AcrEF associated with insertion elements transposition in *Escherichia coli* mutants selected with a fluoroquinolone. **Antimicrob. Agents Chemother.**v. 45, p. 1467-1472, 2001.
- JOHNSON, J.R.; STELL, A.L.; DELAVARI, P. et al. Phylogenetic and pathotypic similarities between *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in dogs and extraintestinal infections in humans. **Journal of Infectious Diseases**, v. 183, p. 897-906, 2001(a).
- JOHNSON, J.R.; STELL, A.L.; DELAVARI, P. Canine feces as a reservoir of extraintestinal pathogenic

- Escherichia coli*. **Infection and Immunity**, v. 69, p. 1306-14, 2001(b).
- KURAZONO, I; NAKANO, M; YAMAMOTO, S; OGAWA, O; YURI, K.; NAKATA, K.; KIMURA, M.; MAKINO, S.; BALAKRISHNAN, G. Distribution of the *usp* gene in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from companion animals and correlation with serotypes and size-variations of the pathogenicity island. **Microbiology Immunology**, v. 47, p. 797-802, 2003.
- KOGIKA, M.M.; WAKI, M.F. Infecção do Trato Urinário de Cães. In: JERICÓ, M.M.; NETO, J.P.A.; KOGIKA, M.M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. Vol. 2. 1 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015. Cap. 166. p. 1474-1482.
- KURYLOWICZ, W. et al. **Antibióticos: uma revisão crítica**. Pernambuco: Guanabara Koogan, 1981. 341 p.
- LERNER, H.; BERG, C. The concept of health in One Health and some practical implications for research and education: what is One Health? **Infect Ecol Epidemiol.**, v. 5, p. 25300, 2015.
- LI, X.Z. Quinolone resistance in bacteria: emphasis on plasmid-mediated mechanisms. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, p. 453-463, 2005.
- LING G.V., NORRIS C.R., FRANTI C.E., EISELE P.H., JOHNSON D.L., RUBY A.L. & JANG S.S. 2001. Interrelations of organism prevalence, specimen collection method, and host age, sex, and breed among 8,354 canine urinary tract infections (1969-1995). **J. Vet. Intern. Med.** 15:341-347.
- LING, T.K.; XIONG, J; YU, Y; LEE, C.C; YE, H; HAWKEY, P.M. Multicenter antimicrobial susceptibility survey of gram-negative bacteria isolated from patients with community-acquired infections in the People's Republic of China. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 50, p. 374-378, 2006.
- LIU, X.; BOOTHE, D.M; THUNGRAT, K.; ALY, S. Mechanisms accounting for fluorquinolone multidrug resistance *Escherichia coli* isolated from companion animals. **Veterinary Microbiology**, v. 161, p. 159-168, 2012.
- LOW D.A., BRAATEN B.A., LING G.V., JOHNSON D.L. & RUBY A.L. 1988. Isolation and comparison of *Escherichia coli* strains from canine and human patients with urinary tract infections. **Infect. Immun.** 56:2601-2609.
- LULICH, J.P., OSBORNE C.A. Urine culture as a test for cure: why, when and how. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. 2004; 34:1027-41.
- MACHADO, J. A.C.; OLIVEIRA, A. C.; ANTÔNIO, N. S.; CANESINI, R.; ROCHA, J. R.; NEGRI, D. Quinolonas: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano VII, no. 12, 2009. 5p.
- MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; STAHL, D.; CLARK, D.P. **Brock biology of microorganisms**. 13th ed, San Francisco: Pearson Education, 2012.
- MARQUES, C; GAMA, L.T; BELAS, A; BERGSTRÖM, K; BEULERT, S. et al. European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. **BMC Veterinary Research**, v. 12, p. 213 DOI 10.1186/s12917-016-0840-3, 2016.
- MARTIN, B.J.L; LUPIOLA, G.P; GONZALEZ, L.Z. et al. Antibacterial susceptibility patterns of *Pseudomonas* strains isolated from chronic canine otitis externa. **Journal of Veterinary Medicine Series B – Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 47, p. 191-6, 2000.
- MELO, V. V; DUARTE, I.P; SOARES, A.Q. **Guia de Antimicrobianos** 1.ed. Universidade Federal de Goiás. Hospital das Clínicas. Coordenação de Farmácia. Residência Multiprofissional em Saúde. Eixo Específico: Farmácia. Goiânia, 2012. 62p.
- MOTA, R.A; FREITAS, M.F.L.; PORTO, W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição para a multirresistência bacteriana. **Braz. J. Vet Res. Anim. Sci., São Paulo**, v. 42, n.6, p. 465-470, 2005.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. p. 454-455.
- NEU, H.C. The crisis of antibiotic resistance. **Science**, v. 257, p. 1064-73, 1992.
- NEWMAN, Shelley J.; CONFER, Anthony W.; PANCIERA, Roger J.. Sistema urinário. In: MCGAVIN, M. Donald; ZACHARY, James F. **Bases da patologia em veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. Cap. 11. p. 686-687. Tradução da 4ª edição.
- NIJTEN, R. et al. Antibiotic resistance of enterobacteraeae isolated from the fecal flora of fattening pigs. **Vet. Quart.**, v. 15, n. 4, p. 152-157, 1993.
- NIKAIIDO, H.; PAGÉS, J. Broad specificity efflux pump and their role in multidrug resistance of gram negative bacteria. **FEMS Microbiology reviews**, v.36, n.2, p. 340-363, 2012.
- OLIN, S. J.; BARTGES, J. W. Urinary tract infections: treatment/comparative therapeutics. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 45, n. 4, p. 721-746, 2015.
- OLIVEIRA, M.; DIAS, F.R; POMBA, C. Biofilm and fluoroquinolone resistance of canine *Escherichia coli* uropathogenic isolates. Short Report. **BMC Research Notes**, v. 7, p. 499, 2014.
- ONE HEALTH SWEDEN: Humans. Animals.Environment.Home.AboutUs.Aboutthis network, 2016. Disponível em: <http://www.onehealth.se/ohs/node/9> Acessado em 02 de novembro de 2016.

- ONE HEALTH SWEDEN: Humans. Animals.Environment.One Health Initiative.One Health News, 2016.Disponível em: <http://www.onehealthinitiative.com/news>. Acessado em: 02 de novembro de 2016.
- PAPINI, R; EBANI, V.V; CERRI, D; GUIDI, G. Survey on bacterial isolates from dogs with urinary tract infections and their *in vitro* sensitivity. **Rev. MédVét.**, v. 157, p. 35-41, 2006.
- PENNA, B; VARGES, R; MARTINS, R; MARTINS, G; LILENBAUM, W. In vitro antimicrobial resistance of *Staphylococci* isolated from canine urinary tract infection. **Can. Vet. J.**, v. 51, no. 7, p. 738-742, jul. 2010.
- POIREL, L.; LIARD, A.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, J.M.; NORDMANN, P. Vibriónaceas a possible source of Qnr-like quinolone resistance determinants. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 56, p. 1118-21, 2005.
- POLZIN, D.J. Therapy of canine and feline urinary tract infections with enrofloxacin. **Compend Contin Educ Pract.**, v. 21, p. 65-72, 1999.
- REUBEN, C.R; GYAR, S.D; ASHEFO, D.; TANIMU, H. Antimicrobial resistance of enterobacteria to some commonly used antibiotics in General Hospital Akwanga, Nasarawa State, Nigeria. **Inter. J. Sci. Res.** v. 2, no. 2, p. 227-281, 2013.
- RIBEIRO, N.A.S. Infecção do trato urinário inferior em cães – Revisão de literatura / Lower urinary tract infection in dogs – Literature review / **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP** / Continuous Education Journal in Veterinary Medicine and Zootechny of CRMV-SP. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 9, n. 1 (2011), p. 38-41, 2011.
- ROBICSEK, A.; JACOBY, G.A.; HOOPER, D.C.The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance.**Lancet Infect Dis.**, v. 6,p.629-640, 2006.
- RODRIGUEZ, J.A.G. et al. **Procedimientos microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.** Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Cap. 11, p. 40-52, 2000. Disponível em: <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>. Acessado em: 25 de outubro de 2016.
- SÁRKÖZY, G. Quinolones: a classofantimicrobialagents. **Veterinari Medicina**, v.46, n.9/10, p.257-274, 2001.
- SCHULTZ, E.; HAENNI, M.; MEREGHETTI, L.; SIEBOR, E.; NEUWIRTH, C.; MADEC, J.Y; CLOECKAERT, A.; DOUBLET, B. Survey of multidrug resistance integrative mobilizable elements SGI1 and PGI1 in *Proteus mirabilis* in humans and dogs in France, 2010-13. **J AntimicrobChemother**, v. 70, p. 2543-2546, jun. 2015.
- SHAHEEN, B.W.; NAYAK, R.; FOLEY, S.L.; BOOTHE, D.M. Chromosomal and plasmid-mediated fluorquinolone resistance mechanisms among broad-spectrum-cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from companion animals in the USA. **J AntimicrobChemother**, v. 68, p. 1019-1024, 2013.
- SILVA, J.M.B; HOLLENBACH, C.B. Fluorquinolonas x resistência bacteriana na Medicina Veterinária. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.2, p.363-369, abr./jun.2010.
- SILVA, K.C.; KNÖBL, T.; MORENO, A.M. Antimicrobial resistance in veterinary medicine: mechanisms and bacterial agents with the greatest impact on human health. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**,São Paulo, v. 50, n. 3, p.171-183, 2013.
- SOTO, S.M.; SMITHSON, A.; HORCAJADA, J.P.; MARTINEZ, J.A.; MENSA, J.P.; VILA, J. Implication of biofilm formation in the persistence of urinary tract infection caused by uropathogenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Inf.**, v. 12, p. 1021-1045, 2006.
- SOUSA, L.C. *Interação da Enrofloxacin com modelos biomembranares: influência das suas propriedades físico-químicas.* 2007. Dissertação (Mestrado em Tecnologia, Ciência e Segurança Alimentar) Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Lisboa, Portugal, 2007.
- SOUZA, C.S. Uma guerra quase perdida. **Revista Ciência Hoje**, v.23, n. 138, p. 27-35, 1998.
- STARCIC, M.; JOHNSON, J.R; STELL, A.L. et al. Haemolytic *Escherichia coli* isolated from dogs with diarrhea have characteristics of both uropathogenic and necrotoxicogenic strains. **Veterinary Microbiology**, v. 85, p. 361-77, 2002.
- SYKES, J.E; WESTROPP, J.L. Bacterial infections of the Genitourinary Tract. In: **Canine and feline infectious diseases.** Elsevier Inc., Cap. 89, p. 871-885. 2013.
- SUMAN, E.; JOSE, J.; VARGHESE, S.; KOTIAN, M.S. Study of biofilm production in *Escherichia coli* causing urinary tract infection. **Indian J Med Microbiol**, v.25, p. 305-306, 2005.
- TENOVER, F.C; HUGHES, J.M. The challenges of emerging infectious diseases.Development and spread of multiply-resistant bacterial pathogens. **J Am Med Assoc**, v. 275, p. 300-304, 1996.
- THOMPSON, M.F; LITSTER, A.L; PLATELL, J.L; TROTT, D.J. Canine bacterial urinary tract infections: new developments in old pathogens. **The Veterinary Journal**, v. 190, p. 22-27, 2011.
- TRAN, J.H.; JACOBY, G.A.; HOOPER, D.C. Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein QnrA with *Escherichia coli* topoisomerase IV.**Antimicrob Agents Chemother**, v.49, p.3050-52, 2005.
- TRAUTNER, B.W; DAROUICHE, R.O. Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection. **Am J Inf Control**, v. 32, p. 177-183, 2004.

WAGENLEHNER, F.M.E; NABER, K.G. Treatment of bacterial urinary infections: presence and future. **European Urology**, v. 49, p. 235-244, 2006.

WANG, M.; SAHM, D.F.; JACOBY, G.A.; ZHANG, Y.; HOOPER, D.C. Activities of newer quinolones against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* containing the plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnr*. **Antimicrob. Agents Chemother**, v.48, p. 1400-01, 2004.

WARREN, A.; TOWNSEND, K.M.; KING, T.; MOSS, S.; O'BOYLE, D.; YATES, R.M. Multi-drug resistant *Escherichia coli* with extended-spectrum β lactamase activity and fluorquinolone resistance isolated from clinical infections in dogs. **Aust. Vet. J.**, v. 79, no. 9, set. 2001.

WEESE, J.S.; BLONDEAU, J.M.; BOOTHE, D.; BREITSCHWRDT, E.B.; GUARDABASSI, L.; HILLIER, A.; LLOYD, D.H.; PAPICH, M.G.; RANKIN, S.C.; TURNIDGE, J.D.; et al. Antimicrobial use guidelines for treatment of urinary tract disease in dogs and cats: Antimicrobial guidelines working group of the international society for companion animal infectious diseases. **Veterinary Medicine International**.2011.p. 263768.

WINDAHL, U; HOLST, B.S; NYMAN, A; GRÖNLUND, U; BENGTTSSON. Characterisation of bacterial growth and antimicrobial susceptibility patterns in canine urinary tract infections.**BMC Veterinary Research**, v. 10, p. 217-27, 2014.

WONG, C.; EPSTEIN, S.E.; WESTROPP, J.L. Antimicrobial susceptibility patterns in urinary tract infections in dogs (2010 – 2013).**Journal Veterinary International Medicine**, v. 29, p. 1045-1052, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH.OIE Terrestrial Animal Health Code.Chapter 6.9.Responsible and Prudent Use of Antimicrobial Agents in Veterinary Medicine.2015. Disponível em: http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_antibio_use.htmAcesso em: 20 de outubro de 2016.

WRIGHT, G.D. Aminoglycoside-modifying enzymes. **Current Opinion Microbiology**, v.2, n.5, p. 499-503, 1999.