

Isolamento e determinação de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de cepas bacterianas presentes na cloaca de *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839) criadas em cativeiro em Petrolina, PE¹

Fernando B. da Silva Sobrinho², Maria da Conceição A. de Sá³, Gisele V. Gouveia³, Mateus M. Costa³, Marcelo D. de Faria², Liliane Milanelo⁴ e Adriana Gradela^{2*}

ABSTRACT- Silva Sobrinho F.B., Sá M.C.A., Gouveia G.V., Costa M.M., Faria M.D., Milanelo L. & Gradela A. 2017. [Isolation and determination of antimicrobials sensitivity and resistance of bacterial strains present in the cloaca *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839) raised in captivity in Petrolina/PE, Brazil.] Isolamento e determinação de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de cepas bacterianas presentes na cloaca de *Trachemys scripta elegans* (Wied,1839) criadas em cativeiro em Petrolina, PE. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 37(3):261-268. Colegiado de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rodovia 407 Km 12, Lote 543, Projeto Nilo Coelho C1, Petrolina, PE 56300-000, Brazil. E-mail: agradela@hotmail.com

This study isolated and determined the profile of susceptibility and antimicrobials resistance of bacterial strains isolated from the cloaca *Trachemys scripta elegans* (*T. s. elegans*) raised in captivity. After 120 days of adaptation, cloacal swab samples obtained from 20 adults animals were grown and, after the pathogens identification through biochemical tests, submitted to the test of susceptibility to nine antimicrobials. *Enterobacter aerogenes* (85%); *Shigella* spp. (10%) and *Edwardsiella* spp. (5%) were isolated and identified. Isolates from *E. aerogenes* were sensitive to gentamicin (86%), enrofloxacin (79%), streptomycin (50%), sulfazotrim (36%) and ampicillin (29%) and resistant to penicillin (100%), erythromycin (93%), cephalexin (86%), ampicillin (71%) and sulfazotrim (64%). Isolates from *Shigella* spp. showed sensitivity to gentamicin (100%), enrofloxacin (50%), doxycycline (50%), streptomycin (50%), ampicillin (50%), penicillin (50%) and sulfazotrim (50%) and resistance to doxycycline (50%), streptomycin (50%), ampicillin (50%), penicillin (100%), cephalexin (50%) and sulfazotrim (50%), while the *Edwardsiella* spp. were sensitive only to gentamicin (100%) and were highly resistant (100%) to other antibiotics. The results suggest the participation of *T. s. elegans* in the epidemiological chain, as reservoir of important pathogens, such as *E. aerogenes*, *Shigella* spp. and *Edwardsiella* spp., making it important to adopt preventive measures for zoonotic risk that present and correct treatment and control in captivity and households, as well as studies that address the sensitivity characteristics and antimicrobial resistance of isolates from cloaca, as it multi-drug resistance to drugs can be transmitted to humans and compromise the treatment of patients with serious diseases.

INDEX TERMS: Zoonosis, Testudines, *Enterobacter aerogenes*, *Shigella* spp., *Edwardsiella* spp., antimicrobes.

¹ Recebido em 24 de outubro de 2015.

Aceito para publicação em 13 de outubro de 2016.

² Colegiado de Medicina Veterinária, Fundação Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rodovia 407 Km 12, Lote 543, Projeto Nilo Coelho C1, Petrolina, PE 56300-000, Brasil. *Autor para correspondência: agradela@hotmail.com

³ Colegiado de Zootecnia, Universidade Federal do Vale do São Francisco (Univasf), Rodovia 407 Km 12, Lote 543, Projeto Nilo Coelho C1, Petrolina, PE 56300-000.

⁴ Centro de Recuperação de Animais Selvagens, Parque Ecológico do Tietê, Departamento de Águas e Energia Elétrica (CRAS-PET/DAEE), Rua Guirara Acangatara 70, Engenheiro Goulart, São Paulo, SP 03719-000, Brazil.

RESUMO. Este estudo isolou e determinou o perfil de sensibilidade e de resistência a antimicrobianos de cepas bacterianas isoladas da cloaca de *Trachemys scripta elegans* (*T. s. elegans*) criadas em cativeiro. Após 120 dias de adaptação, amostras de swab cloacal obtidas de 20 animais adultos foram cultivadas e, após a identificação dos patógenos através de testes bioquímicos, submetidas ao teste de suscetibilidade a nove antimicrobianos. *Enterobacter aerogenes* (85%); *Shigella* spp. (10%) e *Edwardsiella* spp. (5%) foram isolados e identificados. Os isolados de *E. aerogenes* foram sensíveis à gentamicina (86%), enrofloxacina (79%), estreptomomicina (50%), sulfazotrim (36%) e ampicilina (29%) e resistentes a penicilina (100%), eritromicina (93%), cefalexina (86%) ampicilina (71%) e sulfazotrim (64%). Isolados de *Shigella* spp. apresentaram sensibilidade à gentamicina (100%), enrofloxacina (50%), doxicilina (50%), estreptomomicina (50%), ampicilina (50%), penicilina (50%) e sulfazotrim (50%) e resistência a doxicilina (50%), estreptomomicina (50%), ampicilina (50%), penicilina (100%), cefalexina (50%) e sulfazotrim (50%), enquanto que os de *Edwardsiella* spp. foram sensíveis apenas à gentamicina (100%) e altamente resistentes (100%) aos demais antimicrobianos. Os resultados sugerem a participação de *T. s. elegans* na cadeia epidemiológica, como reservatório de patógenos importantes, como *E. aerogenes*, *Shigella* spp. e *Edwardsiella* spp., tornando importante a adoção de medidas preventivas pelo risco zoonótico que apresentam e corretas de tratamento e de controle em cativeiros e domicílios, assim como de estudos que enfoquem as características de sensibilidade e de resistência antimicrobiana dos isolados cloacais, pois a multirresistência a drogas pode ser transmitida aos humanos e comprometer o tratamento de indivíduos com doenças graves.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Zoonose, Testudines, *Enterobacter aerogenes*, *Shigella* spp., *Edwardsiella* spp., antimicrobianos.

INTRODUÇÃO

Répteis têm se tornado cada vez mais objeto de estudos tanto por questões conservacionistas quanto pelo aumento de sua utilização como animais de companhia. Contudo, o aumento de sua popularidade como animais de estimação causa preocupação quanto ao impacto na saúde pública, uma vez que representam fonte potencial de infecção para humanos, pois podem deixar no ambiente, misturados às suas fezes, microrganismos oportunistas e patogênicos (Bringsoe 2006).

Este fato ganha particular interesse quando se trata da *Trachemys scripta elegans* (*T. s. elegans*) (Wied, 1839), uma tartaruga subaquática, habitante do continente Americano, mas que se apresenta amplamente distribuída desde Illinois até o Golfo do México e é muito difundida como “pet” em todo mundo (Burger 2009, Peris 2012). No Brasil esta espécie exótica é a mais comercializada, mesmo sendo o comércio ilegal desde 1991 (Fonseca 2001, Souza et al. 2007), o que aumenta a preocupação sobre os patógenos albergados por estes animais, tipos de doenças que podem ser transmitidas, bem como sobre as medidas profiláticas a serem tomadas, tanto como para orientação dos proprietá-

rios quanto para com os cuidados com esta espécie. Além deste aspecto, torna-se grave também o abandono de indivíduos desta espécie em rios, lagos e corpos d’água quando atingem grandes tamanhos e deixam de ser atrativos como *pets*, pois se tornam um perigo à biodiversidade local (Fonseca 2001, Primack & Rodrigues 2001, Souza et al. 2007), podendo comprometer seriamente populações nativas por extinção ou hibridização (Fonseca 2001, Souza et al. 2007) e promover a transmissão de patógenos (Souza et al. 2007).

Na rotina clínica de répteis, as principais emergências infecciosas bacterianas são representadas por gastroenterites severas, processos bacterianos pneumônicos e mesmo septicêmicos, especialmente quando as condições de cativeiro são inadequadas (Goulart 2007). Embora muitos patógenos possam ser encontrados em répteis, a maioria é representada por bactérias Gram – negativas, como *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Aeromonas* spp., *Protteus* spp. e *Escherichia coli*, as quais podem causar doenças tanto por invasão tecidual quanto por produção de toxina (Cubas & Baptistotte 2007). Cabe ressaltar que, tanto as tartarugas quanto outros répteis, são reservatórios regulares de certas bactérias patogênicas para humanos (Aguirre et al. 2006).

Sá & Solari (2001) *apud* Pessoa (2009) constataram que 93,3% dos quelônios estavam contaminados por *Salmonella*. Embora este patógeno faça parte da microflora intestinal dos quelônios e seja encontrada nas fezes, na urina, nos ovos e na carne dos animais portadores, somente quando estes entram em estado de estresse ou doença e têm sua resistência orgânica diminuída é que ela se torna patogênica (Santoro et al. 2006), podendo causar gastroenterite, hepatite necrótica, pneumonia e septicemia (Francisco 1997 *apud* Flosi et al. 2001). Além disso, tartarugas, tanto de cativeiro quanto as selvagens, têm sido incriminadas por serem vetores de *Salmonella* (Saelinger et al. 2006, Gaertner et al. 2008) e por albergarem patógenos entéricos humanos (Santoro et al. 2006).

Ademais, quando quelônios são criados com outras espécies, em especial mamíferos, que também possuem enterobactérias em sua flora intestinal, estas podem provocar doenças cutâneas ulcerativas e, assim, levar ao desenvolvimento de quadros septicêmicos, como necrose hepática, anorexia, caquexia e morte (Jacobson 2007). Portanto, é de extrema importância o conhecimento da microbiota inerente aos répteis para melhor promover-se uma relação humana e animal segura e saudável, pois alguns dos microrganismos desta microbiota apresentam alto potencial zoonótico e poucas pesquisas abordam este tema.

Assim, este estudo objetivou realizar a identificação e a avaliação da sensibilidade e da resistência a antimicrobianos de cepas bacterianas isoladas na cloaca de *T. s. elegans*, cujo comércio ilegal e abandono causa sérias consequências ao meio ambiente, e também levanta a questão sobre risco de saúde para as populações humanas e nativas em contato com esses animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado com 20 espécimes de *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839), 10 machos e 10 fêmeas, adultos, de ida-

des variáveis, provenientes do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo (SP) (23°29'23.15"S e 46°31'10.90"W) (licença IBAMA nº 136/2011 e 048/2012). Os animais foram transportados (Processo SMA/De-Fau nº 13461/2012) até o Laboratório de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina (PE) (9°23'34"S e 40°30'28"W) onde foram mantidos em cativeiro. O transporte foi realizado em caminhão baú, dentro de gaiolas que permitiam a ampla movimentação dos espécimes, havendo baixa densidade de carga, boa ventilação e alimentação a base de vegetais, manobras importantes para reduzir o estresse, injúrias e o óbito. Em Petrolina (PE) os animais foram descarregados com o mínimo de barulho e movimentação e acomodados em aquaterrário, onde receberam alimentação industrializada comercial uma vez ao dia. A substituição total da água e limpeza do recinto era promovida a cada 48 h e, para evitar proliferação de microrganismos, a água e o recinto eram periodicamente tratados com solução aquosa de azul de metileno.

A coleta de swabs da região cloacal foi realizada para avaliação da flora bacteriana presente. O swab estéril era introduzido e, então, rotacionado no interior da cloaca por aproximadamente um minuto e, em seguida, acondicionado em meio de transporte *Stuart* e encaminhado sob refrigeração ao Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal da UNIVASF, mantendo-o a 4°C até o processamento (em média, 8 horas após a coleta). Os swabs foram semeados com auxílio de alça de platina em meios de cultura com Ágar base enriquecidos com sangue ovino a 8%, sendo as placas incubadas por 48 horas a 37°C (Carter 1990). Após este período, colônias foram identificadas por suas características, morfológicas e bioquímicas, utilização de açúcares e citrato, produção de enxofre, motilidade e produção de indol e Gof, sendo utilizados os meios TSI e SIM, e características tintoriais (Quinn et al. 1994).

O perfil de sensibilidade a antimicrobianos dos microrganismos isolados foi determinado através do método de difusão em disco Kirby-Bauer modificado (Bauer et al. 1966). Os isolados foram semeados em caldo Muller Hinton (Laborclin, Vargem Grande, Paraná - PR, Brasil) e incubados a 37 °C até a obtenção de turvação conforme a escala 0,5 de Mac Farland. Com auxílio de swab, os isolados foram semeados em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Muller Hinton (Laborclin, Vargem Grande, Paraná - PR, Brasil). Logo após, foram aplicados os discos impregnados com as seguintes drogas antimicrobianas: Estreptomicina (EST) (10,0 mcg), cefalexina (CEF) (30,0 mcg), eritromicina (ERI) (10,0 mcg), doxicilina (DOX) (30,0 mcg), gentamicina (GEN) (10,0 mcg), sulfazotrim (SUT) (25,0 mcg), penicilina (PEN) (10,0 mcg), ampicilina (AMP) (10mcg), enrofloxacina (ENO) (0,5 mcg). As placas foram incubadas em estufa durante 24 horas a 37°C e após aleitura dos halos formados, foi determinado o perfil de sensibilidade dos patógenos isolados.

A análise dos resultados foi realizada de acordo com os diferentes microrganismos e drogas testadas, utilizando-se como método estatístico a análise descritiva com porcentagem simples. Este estudo foi aprovado pelo CEDEP da UNIVASF (Protocolo nº 0002/130314).

RESULTADOS

Após o cultivo foram identificadas colônias brancas, mucoides e exibindo hemólise e na coloração de Gram cocobacilos Gram negativos. Foram identificadas três espécies de bactérias Gram-negativas em *T. s. elegans*, sendo a espécie mais frequente *Enterobacter aerogenes*; seguida por *Shigella* spp. e *Edwardsiella* spp. (Quadro 1).

Em três amostras (15%) não foi possível avaliar-se o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos testados. A variação geral de sensibilidade aos antimicrobianos está exibida na Figura 1. Nota-se que em 85% (17/20) das amostras as bactérias isoladas foram altamente sensíveis à gentamicina (15/17= 88%), seguida da enrofloxacina (12/17= 70%) e estreptomicina (8/17= 47%), moderadamente sensíveis a doxicilina (6/17= 35%) e o sulfazotrim (6/17= 35%) e pouco sensíveis a ampicilina (5/17= 19%); cefalexina (1/17= 6%); penicilina (1/17= 6%) e eritromicina (1/17= 6%). Por outro lado, observou-se elevada resistência a penicilina (16/17= 94%); eritromicina (15/17= 88%); cefalexina (13/17= 76%); ampicilina (12/17= 70%); sulfazotrim (11/17= 65%) e a doxicilina (10/17= 59%), moderada resistência à estreptomicina (4/17= 23%), enrofloxacina (3/17= 18%) e baixa resistência a gentamicina (1/17= 6%).

Os isolados de *E. aerogenes* foram sensíveis à gentamicina (86%), enrofloxacina (79%), estreptomicina (50%), sulfazotrim (36%) e ampicilina (29%) e resistentes a penicilina (100%), eritromicina (93%), cefalexina (86%) ampicilina (71%) e sulfazotrim (64%) (Fig.2A). Isolados de *Shigella* spp. apresentaram sensibilidade à gentamicina (100%), enrofloxacina (50%), doxicilina (50%), estreptomicina (50%), ampicilina (50%), penicilina (50%) e sulfazotrim (50%) e resistência a doxicilina (50%), estreptomicina (50%), ampicilina (50%), penicilina (100%), cefalexina (50%) e sulfazotrim (50%) (Fig.2B), enquanto que os de *Edwardsiella* spp. foram sensíveis apenas à gentamicina (100%) e altamente resistentes (100%) aos demais antimicrobianos (Fig.2C).

Quadro 1. Espécies bacteriana e sua frequência de ocorrência na cloaca de *Trachemys scripta elegans* adultas provenientes do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo/SP

Espécies	Swab cloacal (N=20)	Frequência (%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	17	85
<i>Shigella</i> spp.	2	10
<i>Edwardsiella</i> spp.	1	5
Total	20	100

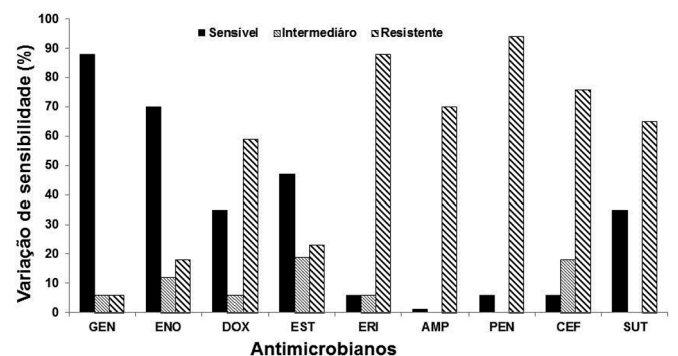


Fig.1. Variação de sensibilidade (%) das bactérias isoladas de *Trachemys scripta elegans* aos antimicrobianos testados. GEN = gentamicina, ENO = enrofloxacina, DOX = doxicilina, EST = estreptomicina, ERI = eritromicina, AMP = ampicilina, PEN = penicilina, CEF = cefalexina, SUT = sulfazotrim.

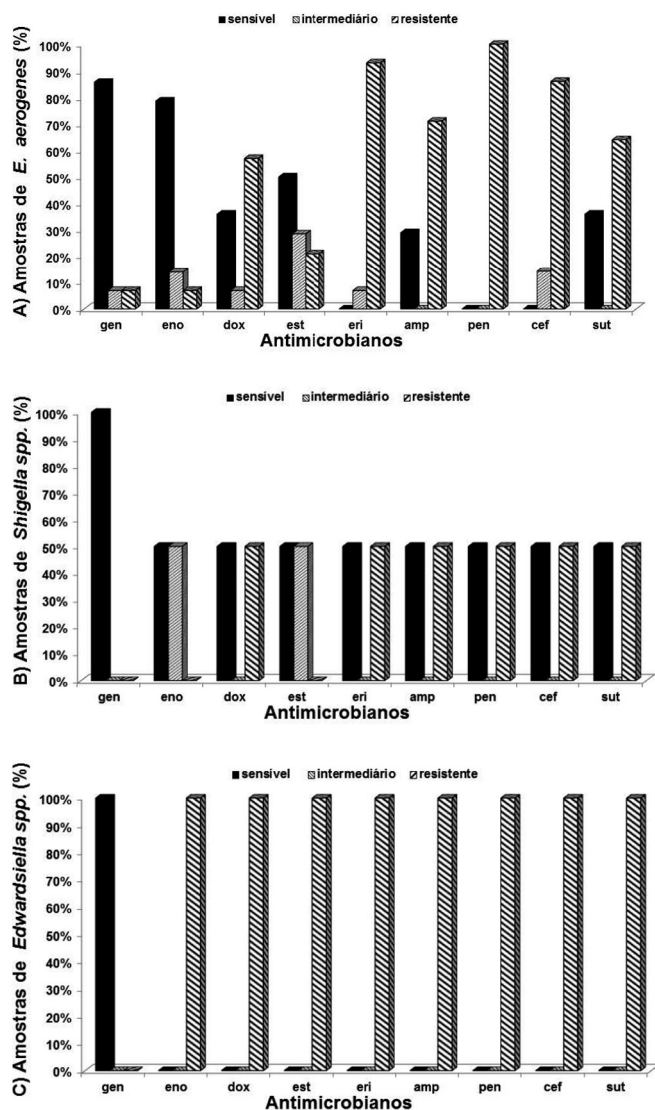


Fig. 2. (A) Variação da sensibilidade das amostras de *Enterobacter aerogenes*; (B) *Shigella* spp. e (C) *Edwardsiella* spp. de *Trachemys scripta elegans* a cada um dos antimicrobianos testados. GEN = gentamicina, ENO = enrofloxacinina, DOX = doxicilina, EST = estreptomicina, ERI = eritromicina, AMP = ampicilina, PEN = penicilina, CEF = cefalexina, SUT = sulfazotrim.

DISCUSSÃO

Com o crescente interesse por répteis de estimação, torna-se fundamental o conhecimento dos patógenos albergados por estes, assim como dos perfis de sensibilidade e resistência que estes apresentam aos antimicrobianos. Estes conhecimentos são também necessários quando se considera os riscos de contaminação nas criações em cativeiro, pois microrganismos da microbiota natural de quelônios podem se tornar patogênicos tanto para seus hospedeiros quanto para humanos. Por isto, os estudos sobre a flora bacteriana são importantes para se compreender o papel que as bactérias exercem como agentes patogênicos em quelônios.

Nos 20 swabs cloacais de *T. s. elegans* foram isoladas Bactérias Gram-negativas pertencentes à família Enterobacteriaceae. Estas bactérias foram representadas primeiramente por *Enterobacter aerogenes*, em 17 amostras

(85%), seguida, respectivamente, por *Shigella* spp., em 2 amostras (10%), e *Edwardsiella* spp., em uma amostra (5%). Ampla variedade de bactérias Gram-negativas pode ser isolada em tartarugas e répteis, contudo a diversidade de ambientes e técnicas microbiológicas de processamento das amostras torna difícil estabelecer qual gênero prevalece sobre o outro. Embora a associação entre tartarugas e *Klebsiella* spp. (Cubas & Baptistotte 2007, Ferronato et al. 2009, Germino et al. 2008, Pessoa 2009, Morais et al. 2011, Liu et al. 2013); *Salmonella* spp. (Cubas & Baptistotte 2007, Germino et al. 2008, Liu et al. 2013); *Escherichia coli* (Cubas & Baptistotte 2007, Ferronato et al. 2009, Germino et al. 2008, Pessoa 2009, Foti et al. 2009, Liu et al. 2013) e *Pseudomonas* spp. (Cubas & Baptistotte 2007, Foti et al. 2009, Liu et al. 2013) seja frequente, este fato não foi observado neste estudo.

O crescimento de bactérias Gram negativas da família Enterobacteriaceae, frequentemente associadas a doenças gastrointestinais, em 100% das amostras deste estudo, denota o risco zoonótico e de circulação destes patógenos, tornando as medidas de controle e profilaxia imprescindíveis. Enfermidades zoonóticas têm sido estudadas desde a antiguidade, tendo a transmissão de patógenos de *Trachemys* ao homem sido causa de algumas infecções importantes em Saúde Pública (CDC 2008). Apesar de qualquer pessoa ser susceptível a contrair infecções pelos patógenos isolados neste estudo, os sintomas mais severos são observados em idosos, crianças e indivíduos imunodeprimidos. Em qualquer um dos casos, a higiene pessoal, em particular a lavagem adequada das mãos, é a principal estratégia de prevenção (Kenneth 2012), bem como a educação de crianças para que adquiram práticas e hábitos de higiene corretos. Salvador (2008) verificou que, em répteis, as infecções ocorrem porque muitos proprietários criam os animais soltos em quintais ou varandas, que são ambientes errôneos para eles, submetendo-os a situações de estresse e, conseqüentemente, de baixa de imunidade, favorecendo o desenvolvimento de infecções bacterianas que podem causar pneumonia e/ou estomatite.

Os resultados deste estudo divergiram de Santos et al. (2011) sob dois aspectos: primeiro porque estes isolaram em *T. s. elegans* recebidos no Centro de Recuperação de Animais Silvestres do Parque Ecológico do Tietê, São Paulo (SP) uma porcentagem maior de *Edwardsiella* spp. (62%) do que de *Enterobacter* spp. (3%) e, segundo, porque foram também isolados *E. coli* (24%), *Salmonella* spp. (10%), *Citrobacter* spp. (3%) e *Klebsiella* spp. (3%). A ausência de isolamento de *Salmonella* foi um achado importante, pois os animais deste estudo foram provenientes de captura pelo Parque Ecológico do Tietê como os utilizados por Santos et al. (2011) e também porque este patógeno é tradicionalmente o mais importante em *T. s. elegans* (Peris 2012), por isto é que tanto nos Estados Unidos quanto no Canadá sua venda é proibida devido à transmissão de salmonelose a humanos (Bringsoe 2002 *apud* Peris 2012). Soma-se a estes fatores o fato de que a persistência e a capacidade de invasão tecidual da *Salmonella* em *Trachemys* infectadas experimentalmente se mostraram termo dependente, com colonização intestinal à temperatura de 26°C,

particularmente do íleo, ceco e cólon, porém sem invasão da parede intestinal seguida de lesões histopatológicas ou colonização interna de órgãos, e a 37°C a colonização do fígado e baço e aumento do número de bactérias no trato intestinal (Pasmans et al. 2002 *apud* Peris 2012). Considerando as altas temperaturas observadas em Petrolina (PE), cujas médias são de 26,3°C; máximas médias de 32,5°C e máximas absolutas de 44,1°C (INM 2014) era esperado que houvesse colonização e presença de *Salmonellas* no trato intestinal destes animais.

Bactérias do gênero *Enterobacter* foram isoladas também em *Caretta caretta* (Foti et al. 2009), *T. s. elegans* (Peris 2012, Liu et al. 2013), *Phrynosops geoffroanus* (Ferronato et al. 2009) e *E. aerogenes* em tartarugas da Amazônia de vida livre (Meyer Junior 2007), cloaca de jabutis (Pessoa 2009) e em *Pododermis expansa* mantidas em cativeiro (Meyer Junior 2007). *E. aerogenes* é um bastonete anaeróbio facultativo, oportunista, que se prolifera em ambientes com pouco ou nenhum oxigênio, tais como esgotos, solo e fezes, podendo provocar bacteremia, osteomielite, pneumonia, septicemia (Watson et al. 2005), e também infecções do trato gastrointestinal, respiratório, urinário e da pele (Paterson 2006). O aumento na patogenicidade e da resistência de bactérias do gênero *Enterobacter* é crescente e tem se tornado uma grande preocupação em saúde pública (Davin-Regli & Pagès 2015). Os resultados indicaram que as mostras de *E. aerogenes* isoladas neste estudo apresentaram alta sensibilidade (> 80%) à gentamicina e enrofloxacin e multirresistência a drogas (MDR), caracterizada como a resistência a três ou mais agentes antimicrobianos, a 66,7% (6/9) dos antimicrobianos testados (Fig.2A). Este último achado reforça a necessidade de educação sanitária e ambiental para pessoas que manejam estes animais, pois a MDR pode ser transmitida aos humanos através da colonização direta do intestino por cepas oriundas dos animais ou pela transmissão de genes de resistência a bactérias residentes no intestino humano (Guimarães et al. 2015). Isto se torna mais relevante quando se considera a antibioticoterapia em pacientes graves, pois as cepas de *E. aerogenes* estão entre as que mais causam problemas nestes (Monteiro 2009). Ademais, a MDR impede o êxito da terapêutica empregada, prolonga as internações hospitalares e aumenta a mortalidade dos pacientes (Gaite et al. 2008).

Embora *Shigella* spp raramente seja associada com tartarugas, Liu et al. (2013) também as isolaram das amostras de swab cloacal (23,9%) de *T. s. elegans* capturadas no estado do Kansas; Morais et al. (2011) isolaram *Shigella flexnerii* na cloaca de *P. expansa* e *Podocnemis unifilis* adultos em quatro praias do Rio Javaés, fronteira do Parque Nacional do Araguaia; e Mahmoud et al. (2008) isolaram *Shigella* spp. do fluido ovidutal de *Chelonya midas*. *Shigella* spp. é um bastonete (bacilo) imóvel, habitante do trato intestinal humano, tem como reservatório o intestino grosso de animais doentes, convalescentes ou assintomáticos e a principal via de transmissão é a fecal-oral ou fômites. Ainda que sua dose infecciosa seja baixa, ou seja, a ingestão de poucas dezenas de células é suficiente para causar a infecção, seu crescimento em alimentos é pouco relevante, porém portadores de Shigelose desenvolvem diarreia, febre, dores de

estômago a partir de um ou dois dias após a exposição às bactérias. Outro fator relevante reside no fato de que mesmo quando a pessoa infectada não apresenta os sintomas ela ainda pode transmitir a bactéria a outras pessoas (Kenneth 2012). A shigelose é considerada uma importante causa de diarreia aguda em todo o mundo, tanto por sua alta prevalência, como pela gravidade da doença (Orrett 2008, Kosek et al. 2010, Moreno 2010). Neste estudo, as bactérias do gênero *Shigella* spp não apresentaram resistência à gentamicina; tiveram sensibilidade e resistência equivalentes para doxicilina, eritromicina, ampicilina, penicilina, cefalexina e sulfazotrim e não apresentaram resistência à estreptomicina e enrofloxacin. Liu et al. (2013) também não observaram resistência a gentamicina, todavia 80% dos isolados de *Shigella* foram resistentes ao imipenem, ceftalotina, ampicilina-sulbactam e ampicilina.

Edwardsiella spp não é rara em ambientes aquáticos (Janda & Abbott 2006), sendo comum na microbiota intestinal normal de animais aquáticos (Moraes & Martins 2004, Leotta et al. 2009, Nimmervoll et al. 2011) e em fezes humanas (Moraes & Martins 2004), assim como de cobras, rãs, tartarugas e aves (Costa 2004). Este patógeno ocorre também no sedimento e na água dos tanques de criação, se manifestando quando os hospedeiros em situação de estresse se encontram na presença de grande quantidade de matéria orgânica na água (Albinati et al. 2006). *Edwardsiella tarda* e *Edwardsiella hoshinae* foram isoladas da cavidade oral de *P. geoffroanus* (Ferronato et al. 2009), da cloaca de jabutis-piranga (Benites et al. 2013) e em *P. expansa* de vida livre e de cativeiro (Meyer Junior 2007). Dentre as espécies de *Edwardsiella*, a *E. tarda* é a mais importante, mais isolada e a única reconhecidamente patogênica para humanos, nos quais pode causar distúrbios intestinais e extra intestinais (Arya et al. 2011), como infecções no aparelho reprodutor feminino (Mikano et al. 2003). As bactérias do gênero *Edwardsiella* spp. isoladas neste estudo não apresentaram resistência à gentamicina, mas apresentaram multirresistência a todos os demais antimicrobianos testados (89%, 8/9) (Fig.2C). Este achado ressalta a importância de medidas profiláticas ao se manter contato com estes animais, pois a resistência bacteriana é o ponto crítico na antibioticoterapia de pacientes graves (Monteiro 2009).

As *Enterobacteriaceae* isoladas neste estudo eram parte do microbiota cloacal dos animais estudados, corroborando com Morais et al. (2011) e discordando de David et al. (2009), que associaram o isolamento de *Shigella* em peixes à poluição da água. Contudo, mesmo que estas bactérias não fossem patogênicas para as tartarugas estudadas, pois as mesmas não apresentavam sinais de doença, as bactérias isoladas são patogênicas tanto para répteis quanto para humanos, requerendo cuidados no seu manuseio.

A evolução das bactérias, pela mutação espontânea e recombinação de genes, cria variabilidade genética sobre a qual atua a seleção natural aos mais aptos e resistentes aos antimicrobianos (Andrade 2002). Esta resistência é um dos grandes problemas da medicina, tanto humana quanto animal, pois a possibilidade de transferência de bactérias resistentes dos animais ao homem é real e de extrema importância para a saúde pública (Guimarães et al. 2015).

Dezenove isolados apresentaram o fenótipo de multirresistência, ou seja, além da resistência aos β -lactâmicos (penicilina e/ou cefalexina) foram resistentes a outras três classes de drogas, concordando com Idrees et al. (2009). As drogas não β -lactâmicas para as quais um maior número de isolados foi resistente foram eritromicina, ampicilina, sulfazotrim e doxicilina. Germino et al. (2008) observaram resistência em todos os isolados das cavidades bucal e cloacal de serpentes, jacaré e jabutis.

Neste estudo as bactérias Gram-negativas isoladas foram sensíveis à gentamicina, a qual pode constituir-se em uma excelente alternativa para o tratamento de infecções causadas por estes patógenos. Foram também sensíveis, na sequência, à enrofloxacin e estreptomicina e resistentes à ampicilina; cefalexina; penicilina e eritromicina. Germino et al. (2008) observaram resistência em todos os isolados das cavidades bucal e cloacal de serpentes, jacaré e jabutis. A alta sensibilidade à gentamicina concordou com Liu et al. (2013) que não observaram resistência à gentamicina nas bactérias isoladas de *T. s. elegans* e discordou de Ebani et al. (2005), que observaram em répteis grande proporção de isolados resistentes à mesma.

À exceção do único isolado de *Edwardsiella* spp. (100%), a resistência a enrofloxacin, uma quinolona de segunda geração ampla e restritamente utilizada na Medicina Veterinária (Spinosa et al. 2002), foi muito baixa (7% para *E. aerogenes* e 0% para *Shigella* spp.), podendo constituir-se numa alternativa para o tratamento de infecções causadas por estes patógenos. Estes resultados concordaram com os de Ebani et al. (2005) e Lopes (2008) que observaram em répteis poucos isolados resistentes a enrofloxacin.

O amplo uso da ampicilina na medicina veterinária, particularmente no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas, pode ser a causa de seu baixo desempenho neste estudo. Resistência à penicilina foi também descrita por Germino et al. (2008). Segundo Davin-Regli & Pagès (2015) a resistência aos antimicrobianos, em especial aos Beta-Lactâmicos, é algo crescente e preocupante em *E. aerogenes*, dada a versatilidade destes micro-organismos em detectar e responder à presença das drogas antimicrobianas presentes no meio onde se encontram.

Segundo Srinivisan et al. (2007), os exemplos de aumento da resistência aos antimicrobianos em diversas espécies animais são inúmeros, inclusive até a antimicrobianos de uso humano. Este fato é preocupante, pois as bactérias isoladas podem ser reservatório de genes resistentes e disseminar esta resistência às bactérias patogênicas e comensais. O uso abusivo de antimicrobianos em seres humanos e animais são responsáveis pelo desenvolvimento de resistência (Singer et al. 2003, Beovic 2006). Contudo, deve-se ter em mente que a resistência aos antimicrobianos é um problema multifacetado, cuja solução requer esforços ativos (Umber & Bender 2009). Assim, deve ser considerada a epidemiologia das bactérias, a interação entre seres humanos e animais, o uso correto de antimicrobianos em todas as espécies e a aplicação de princípios gerais de controle de infecção (Weese & Duijkeren 2010, Woolhouse et al. 2015). Além disto, a água pode se constituir num excelente meio para transferência de genes de resistência e seleção de

micro-organismos resistentes, os quais podem facilmente alcançar os seres humanos (Cantas et al. 2013). Soma-se a estas medidas a utilização dos fármacos em doses corretas e por tempo adequado somente após o conhecimento dos agentes infecciosos por meio do isolamento bacteriano e o uso de testes de sensibilidade antimicrobiana (Mateu & Martin 2001).

CONCLUSÕES

A participação da *T. s. elegans* na cadeia epidemiológica, como reservatório de alguns patógenos importantes como *Enterobacter aerogenes*, *Shigella* spp. e *Edwardsiella* spp., ressalta a importância da adoção de medidas preventivas pelo risco zoonótico que apresentam e corretas de tratamento e de controle em cativeiros e domicílios.

É indispensável também a realização de estudos que enfoquem as características de sensibilidade e de resistência antimicrobiana dos isolados, pois a multirresistência às drogas pode ser transmitida aos humanos e comprometer o tratamento de indivíduos com doenças graves.

O não isolamento de *Salmonella* deveria ser mais bem investigado visto que por sua origem e pelas condições climáticas em Petrolina-PE seria esperada a colonização e presença deste patógeno no trato intestinal destes quelônios.

Agradecimentos.- Ao CETA pela doação dos animais.

REFERÊNCIAS

- Aguirre A.A., Gardner S.C., Marsh J.C., Delgado S.G., Limpus C.J. & Nichols W.J. 2006. Hazards associated with the consumption of sea turtle meat and eggs: a review for health care workers and the general public. *Eco-Health* 3(3):141-153.
- Albinati A.C.L., Albinati R.C.B., Oliveira E.M.D., Laborda S.S. & Vidal L.V.O. 2006. Edwardsielose em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 7(2):164-168.
- Andrade S.P. 2002. Manual de terapêutica veterinária. 2ª ed. Rocca, São Paulo.
- Arya A.V., Rostom A., Dong W.F. & Flynn A.N. 2011. Crohn's disease exacerbation induced by *Edwardsiella tarda* gastroenteritis. *Case Rep. Gastroenterol.* 5(3):623-627.
- Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris J.C. & Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45(4):493-496.
- Benites N.R., Pessoa C., Bandini L., Saldenberg A., Moreno A., Sakata S., Gomes C. & Melville P. 2013. Microbiota bacteriana e fúngica presentes na cloaca de Jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio. *Vet. e Zootec.* 20(1):102-110.
- Beovic B. 2006. The issue of antimicrobial resistance in human medicine. *Int. J. Food Microbiol.* 112(3):280-287.
- Bringsoe H. 2006. Nobanis - Fact Sheet exóticas invasoras espécies - *Trachemys scripta*. Banco de dados on-line da Europa do Norte e Báltico - Nobanis. In: <<http://www.nobanis.org>> Acesso em: 22 jul. 2011.
- Bringsoe H. 2002. Review of the status of *Trachemys scripta elegans* in European Union. In: Adrados L.C. & Briggs L. (Eds). Study of application of EU wildlife trade regulations in relation to species which from an ecological threat to EU fauna and flora, with case studies of American bullfrog (*Rana catesbeiana*). - Unpubl. Study report to the European Commission. Ref. nº B4-3040/2001/32066/MAR/E.3. p.1127-1140. (Apud Peris 2012).
- Burger J. 2009. Red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). Disponível em < http://depts.washington.edu/oldenlab/wordpress/wp-content/uploads/2013/03/Trachemys-scripta-elegans_Burger.pdf> Acesso em 15 set. 2015.

- Cantas L., Shah S.Q., Cavaco L.M., Manaia C.M., Walsh F., Popowska M., Garelick H., Bürgmann H. & Sørum H. 2013. A brief multi-disciplinary review on antimicrobial resistance in medicine and its linkage to the global environmental microbiota. *Front. Microbiol.* 4(artigo 96):1-14.
- Carter G.R. 1990. *Diagnostic procedures in veterinary Bacteriology and mycology*. 5th ed. Academic press Inc., California.
- CDC. 2008. Multistate Outbreak Human *Salmonella* Infections Associated with Exposure to Turtles - United States, 2007-2008. *Morbid. and Mortal. Weekly Rep.* 57:69-72.
- Costa A.B. 2004. Estratégias para o estudo de bactérias potencialmente patogênicas na piscicultura, p.387-403. In: Cyrino J.E.P., Urbinati E.C., Fracalossi D.M. & Castagnolli N. (Eds), *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. TecArt, São Paulo.
- Cubas P.H. & Baptistotte C. 2007. Chelonia (Tartaruga, Cágado, Jabuti), p.86-119. In: Cubas Z.S., Silva J.C.R. & Catão-Dias J.L. (Eds), *Tratado de animais selvagens - Medicina Veterinária*. Roca, São Paulo.
- David O.M., Wandili B., Kakai R. & Waindi E.N. 2009. Isolation of *Salmonella* and *Shigella* from fish harvested from the west gulf of Lake Victoria, Kenya. *JIDC* 3:99-104.
- Davin-Regli A. & Pagès J.M. 2015. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Front. Microbiol.* 6(art. 392):1-10.
- Ebani V.V., Cerri D., Fratini F., Meille N., Valentini P. & Andreani E. 2005. *Salmonella enterica* isolates from feces of domestic reptiles and a study of their antimicrobial in vitro sensibility. *Res. Vet. Sci.* 78(2):117-121.
- Ferronato B.O., Marques T.S., Souza F.L., Verdade L.M. & Matushima E.R. 2009. Oral bacterial microbiota and traumatic injuries of freeranging *Phrynos geoffranus* (Testudines, Chelidae) in southeastern Brazil. *Phylom.: J. Herpetol.* 8(11):19-25.
- Flosi M.F., Garcia J.M., Pugliese C., Sanchez A.A. & Lai A. 2001. Manejo e enfermidades de quelônios brasileiros no cativeiro doméstico. *Rev. Educ. Cont. J. CRMV-SP* 4(2):65-72
- Fonseca F.O. 2001. Olhares sobre o lago Paranoá. SEMARH, Brasília.
- Foti M., Giacopello C., Bottari T., Fischella V., Rinaldo D. & Mammina C. 2009. Antibiotic resistance of Gram negatives isolates from loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the central Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 58(9):1363-1366.
- Francisco L.R. 1997. Répteis do Brasil. Amaro, São José dos Pinhais. (Apud Foti et al. 2009).
- Gaertner J.P., Hahn D., Jackson J., Forstner M.R.J. & Rose F.L. 2008. Detection of Salmonellae in captive and free-ranging turtles using enrichment culture and polymerase chain reaction. *J. Herpetol.* 42(2):223-231.
- Gaite F.B., Sáenz A.J., Vidal M.V. & Perelló C. 2008. Nuevas opciones terapéuticas para el tratamiento de las bacterias multirresistentes en Unidades de Cuidados Intensivos. *Rev. Esp. Quimioter.* 21:9-13.
- Germi G.F.S., Franco I., Peixoto R.M., Seabra A.G.L., Gamosa E.A., Dutra V., Krewer C.C. & Costa M.M. 2008. Isolamento e sensibilidade aos antimicrobianos de isolados de répteis mantidos em cativeiro em Petrolina-PE. Disponível em <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0579-3.pdf>>. Acesso em 15 set. 2015.
- Goulart C.E.S. 2007. Ordem Squamata - Subordem Sauria (Lagarto, Teiú, Iguana), p.58-67. In: Cubas Z.S., Silva J.C.R. & Catão-Dias J.L. (Eds), *Tratado de animais selvagens - Medicina Veterinária*. Roca, São Paulo.
- Guimarães R.A., Lugo Neto D.F., Saraiva M.M.S., Lima R.P., Barros M.R., Costa M.M., Oliveira C.B. & Stipp D.T. 2015. Caracterização filogenética molecular e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de caprinos neonatos com diarreia. *Cienc. Anim. Bras.* 16(4):615-622.
- Idrees F., Jabeen K., Khan M. & Zafar A. 2009. Antimicrobial resistance profile of methicillin resistant staphylococcal aureus from skin and soft tissue isolates. *J.P.M.A.* 59(5):266-269.
- INM. 2014. Instituto Nacional de Meteorologia. «Série Histórica - Dados Diários - Temperatura Máxima (°C) - Petrolina» Consultado em 10 set. 2016.
- Jacobson E.R. 2007. Bacterial diseases of reptiles, p.461-527. In: Jacobson E.R. (Ed.), *Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text*. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Janda J.M. & Abbott S.L. 2006. *The enterobactérias*. 2.ed. American Society for Microbiology, Washington, DC. 411p.
- Kenneth T. 2012. *Shigella and Shigellosis*. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Disponível em <<http://textbookofbacteriology.net/Shigella.html>> Acesso em 12 set. 2015.
- Kosek M., Yori P.P. & Olortegui M.P. 2010. Shigellosis update: advancing antibiotic resistance, investment empowered vaccine development, and green bananas. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 23(5):475-80.
- Leotta G.A., Piñeyro P., Serena S. & Vigo G.B. 2009. Prevalence of *Edwardsiella tarda* in Antarctic wildlife. *Polar Biol.* 32(5):809-812.
- Liu D., Wilson C., Hearlson J., Singleton J., Thomas R.B. & Crupper S.S. 2013. Prevalence of antibiotic-resistant gram-negative bacteria associated with the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*). *J. Zoo. Wildl. Med.* 44(3):p.666-671.
- Lopes L.F.L. 2008. *Salmonella* sp em répteis e aves silvestres no estado de São Paulo: frequência de isolamento, caracterização dos isolados e as consequências para o manejo em cativeiro e introdução. Dissertação de Mestrado em Patologia Experimental e Comparada, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 123p.
- Mahmoud I.Y., Al-Zadjali M., Al-Bahry S.N., Elshafie A., Alkindi A.Y., Al-Alawi W., Al-Harthy A. & Khan T. 2008. Multiple antibiotic resistant gram negative bacteria from the oviductal fluid of the green turtles (*Chelonia mydas*) during egg laying. NOAA Technical Memorandum NMFS SEFSC [NOAA Tech. Mem. NMFS SEFSC] 569:22.
- Mateu E. & Martin M. 2001. Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well? *J. Vet. Med. Ser. B-Infect. Dis. Vet. Public Health* 48(8):569-581. (Apud Arias & Carrilho 2012).
- Meyer Junior J.C. 2007. Determinação qualitativa de enterobactérias presentes em tartarugas da Amazônia (*Podocnemis expansa*) de vida livre e cativeiro. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Belém, PA. 61p.
- Mikano H., Ninomiya M., Sawamura H. & Tamaya T. 2003. Puerperal intrauterine infection caused by *Edwardsiella tarda*. *J. Infec. Cemoth.* 9:341-343.
- Monteiro E.O. 2009. Resistência bacteriana. *Rev. Bras. Med.* 66:3-6. Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=4147. Acesso em 12 set. 2016.
- Moraes F.R. & Martins M.L. 2004. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva, p.343-386. In: Cyrino J.E.P., Urbinati E.C., Fraca Lossi D.M. & Castagnolli N. (Eds), *Tópicos especiais em Piscicultura de água doce tropical intensiva*. TecArt, São Paulo.
- Morais P.B., Souza D.R., Sousa F.M.P., Oliveira K.W. & Pimenta R.S. 2011. Enterobacteriaceae in mouth and cloaca of *Podocnemis expansa* and *P. unifilis* (Testudines: Chelonia) populations of National Park of Araguaia plains, Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 42(2):526-530.
- Moreno A.C., Filho A.F., Gomes T. do A., Ramos S.T., Montemor L.P., Tavares V.C., Filho L. dos S., Irino K. & Martinez M.B. 2010. Etiology of childhood diarrhea in the northeast of Brazil: significant emergent diarrheal pathogens. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 66(1):50-57.
- Nimmervoll H., Wenker C., Robert N. & Albini S. 2011. Septicemia caused by *Edwardsiella tarda* and *Plesiomonas* in captive penguin chicks. *Schw. Arch. Tierh.* 153(3):117-121.
- Orrett F.A. 2008. Prevalence of *Shigella* serogroups and their antimicrobial resistance patterns in southern Trinidad. *J. Health Popul. Nutr.* 26(4):456-62.
- Pasmans F., De Herdt P., Dewulf J. & Haesebrouck F. 2002. Pathogenesis of infections with *Salmonella enterica* subsp. *Enteric* serovar Muenchen in the turtle *Trachemys scripta elegans*. *Vet. Microbiol.* 87(4):315-325. (Apud Peris 2012).
- Paterson D.L. 2006. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *Am. J. Med.* 119(6):S20-S28.
- Peris J.C. 2012. Estudo sanitário de *Trachemys scripta elegans* y *Testudo hermanni hermanni* en la comunidad Valenciana. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera CEU, Valencia, Espanha. 200p.

- Pessoa C.A. 2009. Avaliação da microbiota bacteriana e fúngica na cloaca de jabutis (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio e análise do potencial de risco à saúde humana. Dissertação de Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada a Zoonoses, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 96p.
- Primack R.B. & Rodrigues E. 2001. Biologia da Conservação. Monograf, Londrina.
- Quinn P.J., Carter M.E., Markey B. & Carter G.R. 1994. Clinical Veterinary Microbiology. WOLFE. 648p.
- Sá I.V.A. & Solari C.A. 2001. *Salmonella* in Brazilian and imported pet reptiles. Braz. J. Microbiol. 32(4): 293- 297. (Apud Pessoa 2009).
- Saelinger C.A., Lewbart G.A., Christian L.S. & Lemons C.L. 2006. Prevalence of *Salmonella* spp. in cloacal, fecal, and gastrointestinal mucosal samples from wild North American turtles. J. Am. Vet. Med. Assoc. 229(2):266-268.
- Salvador T.R. 2008. Estudo bacteriológico de répteis em cativeiro com pneumonia e/ou estomatite e suas correlações microbiológicas. Dissertação de Pós-Graduação em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens e Exóticos, Universidade Castelo Branco, Qualittas Instituto de Pós Graduação, São Paulo. SP. 49p. Disponível em <<http://www.qualittas.com.br/uploads/documentos/Estudo%20Bacteriologico%20de%20Repteis%20em%20Cativeiro%20-%20Thiago%20Rodrigo%20Salvador.PDF>> Acesso em 10 set. 2015.
- Santos K.F.R., Petri B., Milanelo L., Dias Neto R. & Fitorra L.S. 2011. Avaliação da microbiota bacteriana cloacal de *Trachemys scripta elegans*, recebidos no CRAS, Parque Ecológico do Tietê, SP. In: Congresso MEDVEP de Especialidades Veterinárias, ExpoUnimed, Curitiba, PR. Proceedings, p.650-652. Disponível em <http://medvep.com.br/wp-content/uploads/2015/09/Artigo-Mv031-12.pdf>. Acesso em 12 set 2016.
- Santoro M., Hernández G., Gaballero M. & Garcia F. 2006. Aerobic bacterial flora of nesting green turtle (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. J. Zoo Will. Med. 37(4):549-552.
- Singer R.S., Finch R., Wegener H.C., Bywater R., Walters J. & Lipsitch M. 2003. Antibiotic resistance - the interplay between antibiotic use in animals and human beings. Lancet Inf. Dis. 3(1):47-51.
- Souza V.L., Santos T.M., Peña A.P., Luz V.L.F. & Reis I.J. 2007. Caracterização dos répteis descartados por mantenedores particulares e entregues ao Centro de Conservação e Manejo de Répteis e Anfíbios - RAN. Rev. Biol. Neotrop. 4(2):149-160.
- Spinosa H.S., Górniak S.L. & Bernardi M.M. 2002. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Srinivisan V., Gillespie B.E., Lewis M.J., Nguyen L.T., Headrick S.I., Schukken Y.H. & Oliver S.P. 2007. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. Vet. Microbiol. 124(3):319-328.
- Umber J.K. & Bender J.B. 2009. Pets and antimicrobial resistance. Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract. 39(2):279-292.
- Watson J.T., Jones R.C., Siston A.M., Fernandez J.R., Martin B.E., Sokalski S., Jensen B.J., Arduino M.J., Srinivasan A. & Gerber S. 2005. Outbreak of catheter-associated *Klebsiella oxytoca* and *Enterobacter cloacae* bloodstream infection in an oncology chemotherapy center. Arch. Intern. Med. 165(22):2639-2643.
- Weese J.S. & Van Duijkeren E. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudointermedius* in veterinary medicine. Vet. Microbiol. 140(3):418-429.
- Woolhouse M., Ward M., Van Bunnik B. & Farrar J. 2015. Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.Biol. Sci. 5(artigo 370):1-7.