

João de Fraipont Castañon

**Bactérias Gram negativas isoladas de sondas
nasogástricas para equídeos utilizadas nos atendimentos
do Hospital Veterinário da FMVZ/USP**

SÃO PAULO

2022

João de Fraipont Castañon

Bactérias Gram negativas isoladas de sondas nasogástricas para equídeos utilizadas nos atendimentos do Hospital Veterinário da FMVZ/USP

Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão da Residência em Área Profissional da Saúde em Medicina Veterinária - Clínica e Cirurgia de Grandes Animais - Equinos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Orientador: Luis Claudio Lopes Correia da Silva

São Paulo

2022

João de Fraipont Castañon

Bactérias Gram negativas isoladas de sondas nasogástricas para equídeos utilizadas nos atendimentos do Hospital Veterinário da FMVZ/USP

Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão da Residência em Área Profissional da Saúde em Medicina Veterinária - Clínica e Cirurgia de Grandes Animais - Equinos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

BANCA EXAMINADORA

Luis Claudio Lopes Correia da Silva
Orientador

Carla Bargi Belli

Cristina de Oliveira Massoco Salles Gomes

São Paulo
2022

AGRADECIMENTOS

Essa monografia só foi possível de ser realizada pela ajuda e apoio da Professora Terezinha Knöbl e a equipe do laboratório de Medicina Aviária FMVZ-USP: Fernanda Borges Barbosa, Victoria Galdino Pavlenco Rocha e Beatriz Queiroz.

Muito obrigado.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
USP	Universidade de São Paulo
BHI	Brain Heart Infusion
mg	Miligrama
mL	Mililitro
MALDI TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight
AMIC	Amicacina
AMOX	Amoxicilina com Ácido Clavulânico
AMP	Ampicilina
CEF	Cefotaxima
CIP	Ciprofloxacina
GEN	Gentamicina
MER	Meropenem
SUF	Sulfametoxazol com Trimetoprim
r/i	Resistência Intrínseca
s/i	Sem informação
%	Porcentagem
Br-Cast	Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase
L	Litro
ppm	Parte por milhão

RESUMO

A sondagem nasogástrica é um procedimento essencial no atendimento ao equídeo em quadro de abdome agudo. Devido sua incapacidade de êmese, negligenciá-la pode levar ao óbito do animal por ruptura gástrica. A maior parte dos profissionais da área utilizam a boca para a sifonagem do conteúdo gástrico durante a sondagem. Por ser um animal herbívoro, monogástrico, com câmara de fermentação cecal, o cavalo apresenta uma microbiota rica em bactérias gram negativas e são considerados importantes fontes de infecções nosocomiais interespecies em hospitais veterinários. O objetivo do estudo foi realizar avaliação microbiológica de sondas nasogástricas após utilização em equídeos atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ a fim de analisar quais são os possíveis patógenos que o médico veterinário está exposto ao ingerir acidentalmente ou ter contato com a microbiota através da mucosa oral via a o conteúdo gástrico do paciente durante a sondagem. Foram coletadas amostras com swab da sonda nasogástrica, após sondagem, durante o atendimento de cólica de 30 equídeos. Pelo MALDI TOF, foram identificadas bactérias gram negativas resistentes presentes no swab e feito seu respectivo perfil de susceptibilidade antimicrobiana pelo disco de difusão. Foram identificadas 48 espécies de bactérias gram negativas multirresistentes.

Palavras Chaves: gram negativa, sonda nasogástrica, resistência antimicrobiana.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos.....	05
Resumo.....	06
1 Introdução.....	08
1.1 Sondagem Nasogástrica.....	08
1.2 Riscos da Profissão.....	08
1.3 Impactos sobre a saúde pública.....	08
2 Objetivos.....	09
2.1 Objetivos Específicos.....	09
3 Metodologia.....	09
4 Resultados.....	11
4.1 Bactérias Identificadas.....	11
4.2 Perfil de Resistência Antimicrobiana.....	12
5 Discussão.....	13
5.1 Microrganismos identificados e possíveis riscos à saúde pública.....	13
5.2 <i>Raoultella planticola</i>	13
5.3 <i>Klebsiella</i> sp.....	14
5.4 <i>Proteus</i> spp.....	14
5.5 <i>Salmonella</i> sp.....	15
5.6 <i>Pseudomonas</i> sp.....	16
5.7 <i>Achromobacter mucicolens</i>	16
5.8 <i>Citrobacter sedlakii</i>	17
5.9 <i>Enterobacter</i> spp.....	17
5.10 <i>Acinetobacter pittii</i>	17
5.11 <i>Serratia fonticola</i>	18
5.12 <i>Providencia rettgeri</i>	18
5.13 <i>Escherichia coli</i>	18
6 Conclusões.....	20
7 Referências Bibliográficas.....	21

1 INTRODUÇÃO

Durante o atendimento emergencial, médicos veterinários comumente negligenciam a biossegurança. Procedimentos simples e rotineiros podem conter grande risco ao profissional. Os equídeos apresentam enorme casuística na síndrome do abdome agudo, sendo o atendimento ao animal com cólica algo rotineiro. Geralmente, o procedimento inicial nesses atendimentos é a sondagem nasogástrica, porém é um procedimento que envolve diversos fatores sensíveis a segurança do animal e do profissional.

1.1 Sondagem Nasogástrica

A sondagem nasogástrica é procedimento essencial na rotina clínica ambulatorial ou a campo com equídeos. Consiste em passar uma sonda flexível pelo meato ventral da narina do animal em direção ao estômago. Devido ao colapamento fisiológico do esôfago é utilizada a boca para soprar e permitir uma passagem da sonda com menor resistência e, conseqüentemente, maior segurança ao animal. A técnica é utilizada para descompressão gástrica e método diagnóstico por análise de parâmetros do conteúdo gástrico em pacientes com síndrome cólica, onde a dilatação gástrica pode ser a causa primária à dor ou a consequência. A dilatação gástrica, quando negligenciada, pode levar a ruptura gástrica e posterior óbito do paciente, pois equinos não possuem a capacidade fisiológica de ênese para esvaziamento gástrico. Estudos anteriores(1) demonstraram que a maioria dos médicos veterinários utilizam a boca para a sifonagem do conteúdo gástrico durante a lavagem, mesmo com métodos alternativos disponíveis. Os pesquisadores(1) evidenciaram que, de acordo com os profissionais entrevistados, outras alternativas, como a bomba de sifonagem, ainda são pouco efetivas e inseguras ao paciente.

1.2 Riscos da Profissão

Os hipiatras em geral apresentam risco sete a oito vezes maior de sofrerem acidentes durante seu ofício em uma carreira média de 30 anos(2). Além disso, também já foi relatada a transmissão paciente-profissional de microrganismos zoonóticos multirresistentes(3). Por ser um animal herbívoro, monogástrico, com câmara de fermentação cecal, o cavalo apresenta uma microbiota composta por organismos Gram-negativos como *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e outras bactérias da família *Enterobacteriaceae*(4), sendo considerados fontes de transmissão importantes em infecções nosocomiais interespecíes em hospitais veterinários.

1.3 Impactos sobre a saúde pública

A Organização Mundial da Saúde considera a resistência bacteriana como uma das dez maiores ameaças à saúde global(5). Estima-se que até 2050 o número

de pessoas que venham a óbito por complicações relacionadas à resistência bacteriana pode chegar a 10 milhões, além de causar um impacto econômico em torno de 100 trilhões de dólares. O uso indiscriminado de antibióticos por automedicação ou em ambientes hospitalares contribui para a seleção de cepas de bactérias resistentes a antibióticos. A possibilidade de infecções bacterianas interespecies demonstram a importância da abordagem “*One Health*” para o controle de resistência bacteriana. Dessa forma, o intuito desse trabalho é abordar a exposição de profissionais veterinários a patógenos resistentes, estimando os riscos biológicos à saúde desses profissionais dentro de um ambiente hospitalar veterinário com foco de atendimento a equinos.

2 OBJETIVOS

O objetivo do estudo foi realizar avaliação microbiológica de sondas nasogástricas após utilização em equídeos atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ a fim de analisar quais são os possíveis patógenos que o médico veterinário está exposto ao ingerir acidentalmente ou ter contato com a microbiota do conteúdo gástrico de pacientes, através da mucosa oral, durante a sondagem.

2.1 Objetivos específicos

- Identificar bactérias Gram-negativas resistentes presentes na sonda nasogástrica;
- Determinar o perfil de resistência antimicrobiana dos agentes isolados;
- Comparar resultados com possíveis efeitos deletérios à saúde do profissional.

3 METODOLOGIA

Foram selecionados 30 equídeos atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ/USP durante o período de janeiro a agosto de 2022. Todos animais deram entrada com quadro de síndrome cólica e não houve predileção por sexo, raça e idade dos animais, assim como pela enfermidade, e sim animais que passariam pela sondagem nasogástrica durante o atendimento. Foram coletados swabs da extremidade da sonda nasogástrica que tem contato com a boca do profissional, logo após a saída do primeiro refluxo gástrico, podendo ser espontâneo ou por sifonagem (Figura 1). A coleta foi feita após contato da boca do profissional com a sonda, pois para o procedimento obrigatoriamente o médico veterinário havia assoprado para estimular a deglutição e ou permitir a passagem menos traumática pelo esôfago, que se apresenta naturalmente colabado na homeostase. Durante a passagem da sonda, a sonda tem contato com a cavidade nasal, faringe e laringe do animal antes de entrar no esôfago. As sondas ficam armazenadas no ambiente ambulatorial do hospital, penduradas e expostas ao ambiente, sendo feita, como rotina, a higienização após procedimentos com clorexidina degermante 2% e água.



Figura 1: Foto de arquivo pessoal, mostra procedimento de coleta do swab a partir da extremidade da sonda nasogástrica.

Os swabs foram colocados em meio de Stuart e encaminhados para o Laboratório de Medicina Aviária da FMVZ-USP, onde foram avaliados quanto à presença de bactérias Gram negativas aeróbicas e anaeróbicas facultativas. As amostras foram enriquecidas em caldo BHI contendo cefotaxima na concentração de 30 mg/mL e incubada a 37°C por 24 horas, e depois plaqueadas em ágar MacConkey, com incubação por 24 horas. As colônias foram identificadas por espectrometria de massa técnica de *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Light* (MALDI TOF).

O perfil de suscetibilidade antimicrobiana foi avaliado pela técnica de disco difusão (Figura 2), segundo a metodologia preconizada pelo Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos, em 2020(6). Para avaliação da resistência antimicrobiana, foram desconsiderados os quadros de resistência intrínseca, que fazem parte das características genéticas do microrganismo, sendo utilizadas as informações atualizadas pelo Br-Cast(6). Em algumas espécies, durante o teste não havia o disco de difusão de todos os antibióticos, para esses foram registrados como sem informação.

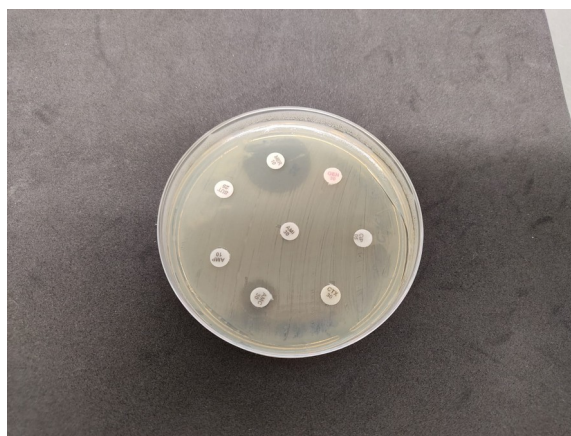


Figura 2: Foto de arquivo pessoal, disco de difusão de uma das amostras durante plaqueamento para avaliação do perfil de suscetibilidade antimicrobiana.

4 RESULTADOS

4.1 Bactérias identificadas

Das trinta amostras coletadas, vinte e seis foram analisadas e quatro foram descartadas devido a erros operacionais no laboratório. Duas não apresentaram crescimento bacteriano, uma amostra apresentou crescimento de seis espécies de bactérias, em duas amostras houve crescimento de cinco espécies, em duas amostras houve crescimento de duas espécies, em cinco amostras houve crescimento de três espécies distintas, e em oito amostras duas espécies distintas. Seis amostras estavam contaminadas por uma cultura pura(Tabela 1).

Tabela 1 - Espécies de bactérias isoladas nas sondas nasogástricas de equídeos atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ/USP.

BACTÉRIA	N	%
<i>Eschericia coli</i>	16	33.33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	12.50
<i>Achromobacter mucicolens</i>	3	6.25
<i>Pseudomonas sp.</i>	3	6.25
<i>Citrobacter sedlakii</i>	2	4.17
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	4.17
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	4.17
<i>Salmonella sp.</i>	2	4.17
<i>Acinetobacter pittii</i>	1	2.08
<i>Enterobacter xiangfangensis</i>	1	2.08
<i>Klebsiela aerogenes</i>	1	2.08
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	2.08
<i>Ochrobactrum tritici</i>	1	2.08
<i>Proteus hauseri</i>	1	2.08
<i>Proteus mirabilis</i>	1	2.08
<i>Providencia retgeri</i>	1	2.08
<i>Pseudomonas mendocina</i>	1	2.08
<i>Pseudomonas tolaasii</i>	1	2.08
<i>Raoultella planticola</i>	1	2.08
<i>Serratia fonticola</i>	1	2.08
Total	48	100

4.2 Perfil de resistência antimicrobiana

Em relação ao perfil de resistência a antibióticos, todas as amostras testadas apresentaram resistência a pelo menos dois. Apenas Meropenem e Ciprofloxacina apresentaram perfil de sensibilidade maior que o de resistência, aproximadamente 97,2% e 47,8%, respectivamente, eficazes contra os microrganismos isolados. Os aminoglicosídeos testados, gentamicina e ampicilina, apresentaram 35,5% e 45% de sensibilidade dos microrganismos, respectivamente. As bactérias isoladas foram sensíveis a menos de 25% dos antibiogramas para amoxicilina com ácido clavulânico, sulfametoxazol com trimetoprim, cefotaxima e ampicilina, sendo a última tendo resistência em 75% dos testes(Tabela 2).

Tabela 2 - Perfil de resistência antimicrobiana das bactérias isoladas das sondas nasogástricas dos equídeos atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ/USP

ANIMAL	BACTÉRIA	Antibióticos							
		AMIC	AMOX	AMP	CEF	CIP	GE N	MER O	SUF
277834	<i>E. coli</i>					s/i			s/i
277834	<i>E. coli</i>					s/i			s/i
277834	<i>Salmonella sp.</i>					s/i			s/i
276762	<i>E. coli</i>					s/i			s/i
276762	<i>K. pneumoniae</i>			r/i		s/i			s/i
276762	<i>P. hauseri</i>					s/i			s/i
278087	<i>P. aeruginosa</i>					s/i			r/i
277801	<i>P. aeruginosa</i>					s/i			r/i
278152	<i>E. coli</i>					s/i			s/i
278152	<i>K. oxytoca</i>			r/i		s/i			s/i
278152	<i>P. mirabilis</i>					s/i			s/i
278143	<i>R. planticola</i>			r/i		s/i			s/i
278143	<i>E. cloacae</i>		r/i	r/i	r/i	s/i			s/i
275154	<i>E. coli</i>								
275154	<i>K. aerogenes</i>		r/i	r/i	r/i				
275154	<i>K. pneumoniae</i>			r/i					
277470	<i>C. sedlakii</i>			r/i					
277470	<i>P. retgeri</i>								
278334	<i>E. coli</i>								
278334	<i>Pseudomonas sp.</i>	r/i	r/i		r/i		r/i		
278334	<i>A. mucicolens</i>				s/i				
278668	<i>S. fonticola</i>								
278668	<i>A. pittii</i>		r/i	r/i	r/i				
278854	<i>E. coli</i>								
278996	<i>E. coli</i>								
278996	<i>A. mucicolens</i>								

278988	<i>E. coli</i>								
278988	<i>Salmonella sp.</i>								
280094	<i>E. xiangfangensis</i>								
280094	<i>P. aeruginosa</i>	r/i	r/i		r/i		r/i		r/i
280132	<i>E. coli</i>								
259928	<i>E. cloacae</i>		r/i	r/i	r/i				
280499	<i>K. pneumoniae</i>			r/i					
280499	<i>P. aeruginosa</i>	r/i	r/i		r/i		r/i		r/i
280499	<i>P. aeruginosa</i>	r/i	r/i		r/i		r/i		r/i
278442	<i>P. tolaasii</i>	r/i	r/i		r/i		r/i		

*AMIC - Amicacina, AMOX - Amoxicilina com Ácido Clavulânico, AMP - Ampicilina, CEF- Cefotaxima, CIP - Ciprofloxacina, GEN - Gentamicina, MER - Meropenem e SUL - Sulfametoxazol com Trimetoprim. Escala de cores preto, cinza e branco representa resistente, intermediário e sensível, respectivamente. r/i - resistência intrínseca e s/i - sem informação

5 DISCUSSÃO

Como o foco do estudo era identificar os possíveis microrganismos que podem ter contato com o profissional ao acidentalmente ingerir ou ter contato bucal com o conteúdo gástrico dos equídeos e a própria sonda, as coletas foram feitas sem rigor antisséptico. As sondas nasogástricas foram lavadas após o uso, com água e clorexidina degermante 2% entre os usos, como é feito na rotina do hospital, mantendo as condições reais de uso até o momento.

5.1 Microrganismos identificados e possíveis riscos à saúde pública

O perfil identificado em todas as bactérias são de comensais, responsáveis por infecções nosocomiais e relacionados principalmente a agravos na saúde em indivíduos imunossuprimidos. Como os cavalos são portadores de abundante carga de bactérias Gram negativas no seu lúmen intestinal, esses resultados são esperados em ambiente hospitalar frequentado por esses animais, porém representa grande risco de infecções nosocomiais e infecções aos trabalhadores do local. As bactérias Gram-negativas apresentam importante fator de resistência antimicrobiana por transferência de plasmídeos, o que é perceptível no atual estudo com apenas dois antibióticos apresentando perfil de sensibilidade maior que o de resistência.

5.2 *Raoultella planticola*

A *Raoultella planticola* é uma bactéria oportunista da família *Enterobacteriaceae*, predominantemente encapsulada no solo e considerada de baixo potencial patogênico. Apresenta poucos relatos em literatura na área da medicina equina ou equinocultura em relação aos outros microrganismos identificados neste estudo. Em 2021, um estudo relatou(7) peritonite infecciosa em um paciente humano após trabalhar com preparo de pista para evento equestre. Em uma revisão de literatura sobre o microrganismo, realizada em 2014(8), foram

relatados 17 casos de infecção grave em humanos desde 1984, quando foi descrito o microorganismo pela primeira vez(9). Entre eles, três casos de peritonite infecciosa, sendo dois desses casos em trabalhadores rurais com contato direto com animais de fazenda. Em todos os casos graves revisados os indivíduos apresentavam-se imunossuprimidos. A revisão avalia quatro possíveis cenários de contaminação pela bactéria: trauma, imunossupressão, bacteremia e nosocomial(8). A presença de uma espécie pouco relatada, condiz a partir da identificação por MALDI TOF pelo alto grau de sensibilidade. O perfil da *Raoultella sp.* é similar aos das outras gram negativas aqui encontradas

5.3 *Klebsiella sp.*

O gênero *Klebsiella sp.* pertence a bactérias oportunistas, ubíquas e comensais, encontradas comumente no trato gastrointestinal e nasofaringe de humanos e animais, também encontrada na água e no solo. Relatos de infecção grave estão relacionados com indivíduos imunossuprimidos. A bactéria tem papel importante na diarreia induzida por antibióticos em humanos e animais, e tem prevalência alta nas pneumonias em cavalos, com relatos de contaminação iatrogênica após ventilação mecânica (10). Autores destacam(11) que, na instauração da colite, ocorrem nichos para multiplicação a partir da disrupção da microbiota colônica, produzindo citocinas que induzem morte celular e levam à lesão da mucosa colônica. Esse quadro era mais relatado por infecção por *Clostridium sp.*, principalmente o *Clostridium difficile*, porém, estudos anteriores(11) demonstraram a crescente importância da *K. oxytoca* no quadro. Relatos de colite em humanos corroboram as respostas recebidas por pesquisas dos profissionais que ingeriram refluxo gástrico durante a sondagem(1). Dos poucos relatos de infecção em equinos, foram publicados em 1987 três casos de septicemia em animais após administração intravenosa de solução de aminoácidos contaminada(12). A *K. pneumoniae* é uma das bactérias de maior importância em infecções hospitalares nosocomiais, por microrganismos multirresistentes (13 e 14), apresentando alto grau de resistência a beta-lactâmicos, principalmente devido à enzima *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) que permite degradar carbapenêmicos como o Meropenem e os outros beta-lactâmicos (13). No atual estudo, todo o gênero apresentou alta resistência aos antibióticos deste grupo, porém, sendo sensível ao Meropenem em todos os antibiogramas.

5.4 *Proteus spp.*

Bactérias do gênero *Proteus* são anaeróbios facultativos, heterotróficos e proteolíticos. Conhecidas como patógenos oportunistas, são relacionadas a infecções em indivíduos imunossuprimidos e podem estar presentes na microflora intestinal em diversos animais domésticos, selvagens e nos humanos(15). O gênero consiste de quatro espécies, sendo duas delas identificadas no estudo: *P. mirabilis* e *P. hauseri*. O *P. hauseri* ainda não apresenta trabalhos que relacionem sua presença

com equinos, sendo descrito como causador de surtos de grande mortalidade em criações de carpa no oriente(16) e presente em outros animais aquáticos como tartarugas domésticas(17). O *P. mirabilis* é considerado o agente principal nas infecções causadas por *Proteus* spp., de 80 a 90% das infecções(15). Nos animais domésticos as infecções do trato urinário e otites são as enfermidades mais descritas causadas por esse microrganismo (15 e 18), sendo particularmente presente na microbiota do esôfago e pele de equinos(19). Mesmo sendo esperada a sua presença nas sondas durante a descompressão gástrica, o *Proteus* spp., assim como outras bactérias da família Enterobacteriaceae, podem ser consideradas contaminação fecal. No presente estudo não se pode estabelecer a origem da bactéria.

5.5 Salmonella sp.

Outra bactéria da família *Enterobacteriaceae*, a *Salmonella* sp. é anaeróbia facultativa e quase todas as espécies apresentam flagelo peritricô. São extremamente heterogêneas, divididas em duas espécies e diversos sorotipos em cada(20). No atual estudo não foi diferenciada a espécie e sim identificada a presença do gênero. A salmonelose, como é chamada a infecção pela bactéria, é responsável por volta de 180 milhões de casos de diarreia que acontecem anualmente no mundo (5). Assim como nos humanos, os equinos podem ser portadores sem sinais clínicos e desenvolverem a doença em casos que ocorra depressão do sistema imune. Surtos de infecções nosocomiais em hospitais veterinários de equinos são amplamente reportados em literatura, sendo potros e cavalos jovens os principais afetados (21 e 22). A transmissão ocorre basicamente pela rota oral-fecal, onde há contato direto entre os animais, animais e fômites ou animais e humanos. A bactéria replica-se no lúmen colônico e causa dano à mucosa intestinal, causando quadro de colite aguda com importante perda de líquido. A lesão na mucosa pode levar à bacteremia e endotoxemia pela translocação à corrente sanguínea rapidamente, levando ao óbito do animal (21). O Ministério da Saúde (23) indica a desinfecção de fômites contaminados pela *Salmonella* com desinfetantes a base de hipoclorito de sódio em concentração de 10 ppm (mg/L) e com produtos de limpeza como sabão neutro e detergente. Foi a bactéria identificada com maior quantidade de relatos graves à saúde humana, mesmo apresentando método de limpeza eficiente e compatível ao esperado na higienização rotineira das sondas, sua presença também pode indicar ineficiência na limpeza desses instrumentos e alto risco à saúde do médico veterinário durante o procedimento de lavagem gástrica.

5.6 *Pseudomonas* sp.

As *Pseudomonas* sp. são bacilos aeróbios estritos, com capacidade de produção energética durante anaerobiose (24), ubíquos, patogênicos oportunistas muito relacionados a infecções hospitalares multirresistentes, principalmente a *P. aeruginosa*. A espécie citada apresenta grande resistência a desinfecção, inclusive a soluções iodadas e amônia quaternárias, sendo sensíveis a compostos fenólicos e beta-glutaraldeído (25). Além dessas características, apresenta alto grau de resistência antimicrobiana, sendo o gênero com mais resistências intrínsecas analisado no atual estudo. Em trabalho de revisão de 2010 (24), foi estimado mais de 800 espécies do gênero, sendo identificados três nesse trabalho: *P. aeruginosa*, *P. tolaasii* e *P. mendocina*. A *Pseudomonas tolaasii* é o agente principal causador da doença da mancha marrom em cogumelos (26), não sendo encontrada relação específica da espécie com animais domésticos. A infecção é controlada nas culturas fúngicas com utilização de ácido acético ou hipoclorito de sódio (26). Em relação a outra espécie identificada, *P. mendocina*, foram relatados poucos casos de infecções humanas e até o momento não foram relatados casos na medicina veterinária. Um levantamento realizado em 2020 (27) analisou 294 artigos de infecções de seres humanos pela bactéria, sendo endocardite e infecções no sistema nervoso central as morbidades mais comumente encontradas. A *P. aeruginosa* é a espécie do gênero com maior relatos em infecções hospitalares graves, apresenta amplo repertório de fatores de virulência e alta taxa mutagênica por plasmídeos. Trabalho de revisão em 2021 mostrou a *P. aeruginosa* como principal microorganismo em casos de fibrose cística em humanos, com a bactéria conseguindo adaptar-se ao trato respiratório de seus hospedeiros (28). Mesmo com poucos relatos de infecções da espécie em equinos, testes microbiológicos constataram a espécie em 12% das amostras de swabs uterinos de éguas com quadro de endometrite subclínica (29) e um levantamento de 2021 considerou os equídeos como reservatórios de *P. aeruginosa* multirresistentes, incluindo por volta de 8% resistentes a antibióticos carbapenêmicos (30). Neste trabalho todos os microrganismos do gênero encontrados apresentaram ampla resistência antimicrobiana. O alto grau de resistência à desinfecção e os métodos de limpeza da sonda na rotina do hospital corroboram para a identificação de *Pseudomonas* sp. nas culturas, apresentando alto risco ao profissional.

5.7 *Achromobacter mucicolens*

É uma bactéria ambiental, oportunista, relacionada a infecção em pacientes imunossuprimidos. As espécies do gênero foram descritas, na sua maioria, recentemente (31). A espécie encontrada não apresenta relatos na literatura da medicina veterinária, e o gênero só foi relatado em infecções nosocomiais em hospitais humanos (32). Sua identificação no estudo pode ser justificada, novamente, pela utilização do MALDI TOF que permite maior sensibilidade na identificação de enterobactérias.

5.8 *Citrobacter sedlakii*

Descrita pela primeira vez em 1993 (33), foi isolada de fezes, sangue e feridas humanas, sem trabalhos descrevendo sua identificação na medicina veterinária. Há diversos relatos de infecções em pacientes imunocomprometidos, principalmente internados com complicações como cistite, pielonefrite, colite e meningite (34, 35 e 36). Assim como as outras bactérias do gênero, apresenta um extenso perfil de resistência antimicrobiana, sendo que no atual estudo demonstrou-se sensível apenas ao meropenem.

5.9 *Enterobacter spp.*

Gênero pertencente a bactérias anaeróbicas facultativas, amplamente difundidas na natureza, comumente encontrada no ser humano e em equinos no trato digestório e também respiratório. Dentro dos microrganismos isolados, é o gênero com mais relatos de infecções nosocomiais em unidades de tratamento intensivo em humanos (37). O gênero foi encontrado em diversos trabalhos em abundância no trato respiratório anterior equino (38, 39 e 40). Esses achados condizem com a metodologia desse estudo, já que a sonda passa pelas narinas, faringe e início da laringe do animal e assim como as outras bactérias está relacionada com infecções oportunistas nos seres humanos e nos animais, principalmente pneumonias (36 e 37). A *E. cloacae* é considerada um complexo pois apresenta seis espécies devido a similaridade do seu material genético. As espécies deste complexo são: *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii* e *E. nimipressural* (36). O método de identificação do processo é a partir do MALDI TOF, assim como foi utilizado na metodologia do trabalho, pois pela análise bioquímica essas espécies são consideradas *E. cloacae*, porém não foram identificadas outras espécies do complexo. É um microrganismo importante em infecções nosocomiais neonatais, estando muito relacionado com contaminação na administração parenteral, inclusive de soluções heparinizadas, comumente utilizadas na rotina em hospitais veterinários. Sua ampla resistência se dá, principalmente, à produção de beta lactamases, sendo a *E. cloacae* a espécie no gênero mais eficiente na resistência antimicrobiana (36). Essa evidência pode ser constatada no nosso estudo, onde as espécies identificadas apresentaram alta taxa de resistência aos antimicrobianos testados, apenas sendo consenso a sensibilidade ao meropenem. A *E. xiangfangensis* é considerada por alguns autores parte do complexo da *E. cloacae* (40), assim como a família e o gênero que pertence, sendo considerado um patógeno oportunista relacionado, principalmente, com infecções em paciente imunocomprometidos.

5.10 *Acinetobacter pittii*

Espécie pertencente ao complexo *Acinetobacter Calcoaceticus-Acinetobacter Baumannii*, são bactérias correntes em infecções nosocomiais, com a *A. baumannii*

sendo a espécie do complexo geralmente mais prevalente. A espécie identificada no atual estudo apresenta prevalência baixa, porém com grande potencial de resistência a carbapenêmicos, como o meropenem(41). Dentro do presente trabalho, a amostra identificada apresentou perfil de resistência intrínseca apenas aos beta-lactâmicos e cefalosporina testados. Alguns trabalhos recentes mostram o crescente risco da espécie identificada nas infecções hospitalares, inclusive sua importância em infecções oportunistas a pacientes acometidos pelo SARS-Cov 2 (42).

5.11 *Serratia fonticola*

Pertencente à família *Enterobacteriaceae*, é encontrada comumente no ambiente, estando mais relacionada ao sistema de esgoto. Até 2016 estavam relatados em literatura apenas 5 casos de septicemia a partir de infecções oportunistas pela bactéria (43), e nessa revisão foi postulada a possibilidade de ser uma bactéria presente ocasionalmente na microbiota do trato intestinal humano. Também há poucos relatos relacionados à medicina veterinária, geralmente identificada em vertebrados aquáticos (44 e 45). Assim como outras espécies identificadas no trabalho, em métodos de identificação bioquímicos a *S. fonticola* geralmente é caracterizada como *Salmonella* sp., sendo que métodos mais precisos como PCR (46) e o MALDI TOF permitem sua identificação mais rápida e com maior sensibilidade. A espécie identificada teve seu perfil de resistência antimicrobiana parecido com o encontrado na revisão em 2016 (40), com resistência à amoxicilina e ampicilina e sensível aos outros antibióticos testados, inclusive a sulfametoxazol com trimetoprim, que apresentou perfil mais fraco de eficácia contra as espécies identificadas.

5.12 *Providencia rettgeri*

Considerada uma bactéria Gram-negativa oportunista que raramente causa infecções nosocomiais em humanos. É encontrada comumente no ambiente, solo, água e no trato intestinal de animais, apresenta alto grau de resistência bacteriana devido a sua capacidade de criar biofilme, também criando importante resistência a desinfecção do ambiente hospitalar, sendo mais relatada infecções em unidades de tratamento intensivo (46). A produção de enzimas que degradam antibióticos é outro fator que aumenta a importância do gênero *Providencia* na saúde de indivíduos suscetíveis. Já foram identificadas várias bactérias com resistência a carbapenêmicos (47 e 48).

5.13 *Escherichia coli*

Bactéria da família *Enterobacteriaceae* e classe *Gammaproteobacteria*, é provavelmente a que possui maior quantidade de estudos e importância na literatura médica. Comumente usada como indicador de contaminação fecal, é um microrganismo oportunista que vive, principalmente, no fim do trato intestinal dos

animais de sangue quente, sendo disseminado a partir das fezes. Devido a essas características é encontrada com facilidade no meio ambiente, principalmente em locais com efluentes de água, sendo compatível com o que foi encontrado no presente estudo, uma vez que a manobra de sondagem ocorre em ambiente úmido e com baixo grau de higiene, sendo a *E. coli* identificada em um terço das amostras. Alguns trabalhos mostraram sobrevivência e reprodução da bactéria fora do trato intestinal, no solo e água(49 e 50). Esses autores utilizam o termo de espécies de *E. coli* “naturalizadas” no ambiente. Todas as espécies identificadas no presente estudo apresentaram alto grau de resistência antimicrobiana com sete espécies sendo sensíveis apenas ao meropenem. Esse achado é compatível com os exames encontrados durante a rotina do hospital, porém esses dados são ainda de comunicação pessoal e não publicados, *E. coli* multirresistentes foram encontradas em feridas cirúrgicas contaminadas, implantes cirúrgicos e conteúdo de abscessos dos pacientes internados. Um estudo de 2017 na Austrália, de levantamento de *E. coli* multirresistente em animais domésticos (51), mostrou total sensibilidade da bactéria a carbapenêmicos e maior frequência da bactéria em amostras isoladas de cavalos, em comparação a cachorros e gatos. Em trabalho recente no Irã, de 65 amostras de equinos de passeios saudáveis, foram identificadas em sua maioria *E. coli* resistentes a Amoxicilina com Clavulanato e Cefalosporina (52).

6 CONCLUSÕES

O trabalho evidenciou os riscos que o médico veterinário assume ao realizar o procedimento de sondagem nasogástrica em equinos. Além dos perigos envolvidos com o manejo desses animais, o atendimento do cavalo em quadro de cólica apresenta riscos biológicos ao profissional. Os microrganismos identificados apresentaram perfil de patógenos oportunistas, com a capacidade de causar infecções severas em indivíduos imunossuprimidos. Dentro da rotina hospitalar há relatos esporádicos de casos de profissionais com sinais de diarreia e distúrbios gastrointestinais após ingestão ou contato oral acidental com conteúdo estomacal de equino durante a manobra de sondagem nasogástrica, porém, a partir dos resultados obtidos percebe-se grande risco à saúde do médico veterinário. Conclui-se que mesmo sendo uma manobra essencial ao suporte para a vida do cavalo em quadro de síndrome do abdome agudo, a adequada higienização da sonda e a possibilidade de alternativas à sucção para decompressão gástrica, que não seja com contato direto da boca do profissional, é fundamental para a prevenção de infecção nosocomial do médico veterinário.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Drozdowska K, Potocnik E, Schwarz B. Nasogastric Intubation as Health and Safety Risk in Equine Practice—A Questionnaire. *Journal Of Equine Veterinary Science*, 2020;88: 102951. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2020.102951>;
2. Parkin, T D H, Brown, J, Macdonald E B. Occupational risks of working with horses: a questionnaire survey of equine veterinary surgeons. *Equine Veterinary Education*. 2018;30(4): 200-205. <http://dx.doi.org/10.1111/eve.12891>;
3. Cuny C, Witte W. MRSA in equine hospitals and its significance for infections in humans. *Veterinary Microbiology*. 2017;200:59-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.01.013>;
4. Jang J, Hur H G, Sadowsky M J, Byappanahalli M N, Yan T, Ishii S. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. *Journal Of Applied Microbiology*. 2017; 123(3): 570-581. <http://dx.doi.org/10.1111/jam.13468>;
5. WHO - World Health Organization. United Nations meeting on antimicrobial resistance. *Bulletin Of The World Health Organization*. WHO Press. 2016;94(9): 638-639. <http://dx.doi.org/10.2471/blt.16.020916>;
6. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Resistência Intrínseca e Fenótipos Raros Versão 3.2 do EUCAST. Rio de Janeiro: BR Cast. 2020;
7. Gillion V, Demoulin N, Vandercam B, Goffin E. *Raoultella planticola* peritonitis in a patient undergoing automated peritoneal dialysis 48 hours after sanding a horse trail. *Bulletin de La Dialyse à Domicile*. 2021; 4(4):271-275. <http://dx.doi.org/10.25796/bdd.v4i4.63663>;
8. Ershadi A, Weiss E, Verduzco E, Chia D, Sadigh M. Emerging pathogen: a case and review of *Raoultella planticola*. *Infection*, 2014; 42(6): 1043-1046. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-014-0638-9>;
9. Freney J, Fleurette J, Gruer L D, Desmonceaux M, Gavini F, Leclere H. *Klebsiella trevisanii* colonisation and septicaemia. *The Lancet*, 1984; 1: 909;
10. Estell K E, Young A, Kozikowski T, Swain E A, Byrne B A, Reilly C M, Kass P H, Aleman M. Pneumonia Caused by *Klebsiella* spp. in 46 Horses. *Journal Of Veterinary Internal Medicine*, 2015; 30(1):314-321. <http://dx.doi.org/10.1111/jvim.13653>;
11. Neog N, Phukan U, Puzari M Sharma M, Chetia P. *Klebsiella oxytoca* and Emerging Nosocomial Infections. *Current Microbiology*, 2021; 78(4):1115-1123. <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-021-02402-2>;
12. Hazlett M J, Goodrow D C, Lynch J A, Kierstead M K. *Klebsiella oxytoca* Septicemia due to Intravenous Administration of Contaminated Amino-acid Solution to Three Horses. *Canadian Veterinary Journal*. 1987; 28(7):422-424. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1680471/>. Acesso em: 22 set. 2022;

13. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Segurança do Paciente e qualidade em serviços de saúde: Prevenção de infecções por microrganismos multirresistentes em serviços de saúde. Brasília: ANVISA 2021; 1: 103. Disponível em: <https://pncq.org.br/wp-content/uploads/2021/03/manual-prevencao-de-multirresistentes7.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2022;
14. Sousa A B A, Ramalho F L, Camargo B. Prevalência de Infecções nosocomiais ocasionadas por *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC) em indivíduos hospitalizados. Brazilian Journal Of Health Review. 2020; 3(2): 1915-1932. <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv3n2-051>;
15. Drzewiecka D. Significance and Roles of *Proteus* spp. Bacteria in Natural Environments. Microbial Ecology. 2016; 72(4): 741-758. <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-015-0720-6>;
16. Kumar R, Swaminathan T R, Kumar R G, Dharmaratnam A, Basheer V S, Jena J K. Mass mortality in ornamental fish, *Cyprinus carpio* koi caused by a bacterial pathogen, *Proteus hauseri*. Acta Tropica. 2015; 149: 128-134. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.05.022>;
17. Pathirana H N K S, De Silva B C J, Wimalasena S H M P, Hossain S, Heo G J. Comparison of virulence genes in *Proteus* species isolated from human and pet turtle. Iranian Journal Of Veterinary Research. 2018; 19(1): 48-52;
18. Zappa, V. Índice de Resistência Múltipla aos Antimicrobianos, Concentração Inibitória Mínima e Beta-lactamases de espectro estendido em Linhagens de *Proteus mirabilis* e *Proteus vulgaris* Isoladas de diferentes afecções em animais domésticos. Botucatu. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Higiene Veterinária e Saúde Pública, Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2015;
19. Meyer W, Kacza J, Schnapper A, Verspohl J, Hornickel I, Seeger J. A first report on the microbial colonisation of the equine oesophagus. Annals Of Anatomy - Anatomischer Anzeiger. 2010; 192(1): 42-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aanat.2009.10.004>;
20. Ryan M P, O'dwyer J, Adley C C. Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen *Salmonella*. Biomed Research International. 2017; 2017: 1-6. <http://dx.doi.org/10.1155/2017/3782182>;
21. Dargatz D A, Traub-Dargatz J L. Multidrug-resistant *Salmonella* and nosocomial infections. Veterinary Clinics Of North America: Equine Practice. 2004; 20(3): 587-600. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2004.07.008>;
22. Martelli F, Kidd S, Lawes J. *Salmonella* and salmonellosis in horses: an overview. Veterinary Record. 2018; 182(23): 659-660. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.k2525>;
23. Ministério da Saúde. Série A. Normas e Manuais Técnicos: Manual Integrado de Vigilância e Controle da Febre Tifóide. Brasília: Editora MS. 2008; 1: 92. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a->

- <z/f/febre-tifoide/publicacoes/manual-integrado-de-vigilancia-e-controle-da-febre-tifoide/view> Acesso em: 17 nov. 2022;
24. Palleroni N J. The *Pseudomonas* Story. Environmental Microbiology. 2010; 12(6): 1377-1383.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02041.x>;
 25. Santos L R, Scalco N J F, Rizzo N N, Bastiani P V, Rodrigues L B, Barcellos H H A, Brun M V. Contaminação Ambiental em um Hospital Veterinário e Perfil de Susceptibilidade a Antimicrobianos das Bactérias Isoladas. Ciênc. anim. bras. 2010; 11(2):384-9. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/2988>;
 26. Savoie J M, Mata G, Largeteau M. New Prospects in Pathogen Control of Button Mushroom Cultures. Mushroom Biotechnology. 2016: 93-110.
<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-802794-3.00006-0>;
 27. Ioannou P, Vougiouklakis G. A Systematic Review of Human Infections by *Pseudomonas mendocina*. Tropical Medicine and Infectious Disease 2020;5(2):71.
<http://dx.doi.org/10.3390/tropicalmed502007>;
 28. Jurado-Martín I, Sainz-Mejías M, McClean S. *Pseudomonas aeruginosa*: An Audacious Pathogen with an Adaptable Arsenal of Virulence Factors. International Journal of Molecular Sciences 2021;22(6):3128.
<http://dx.doi.org/10.3390/ijms22063128>;
 29. Díaz-Bertrana ML, Deleuze S, Pitti Rios L, Yeste M, Morales Fariña I, Rivera del Alamo MM. Microbial Prevalence and Antimicrobial Sensitivity in Equine Endometritis in Field Conditions. Animals 2021;11(5):1476.
<http://dx.doi.org/10.3390/ani11051476>;
 30. Pottier M, Castagnet S, Gravey F, Leduc G, Sévin C, Petry S, et al. Antimicrobial Resistance and Genetic Diversity of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Equine and Other Veterinary Samples. Pathogens [Internet] 2022;12(1):64.
<http://dx.doi.org/10.3390/pathogens12010064>;
 31. Vandamme P, Moore E R B, Cnockert M, Brandt E, Svensson-Stadler L, Houf K, Spilker T, Lipuma J J. *Achromobacter animicus* sp. nov., *Achromobacter mucicolens* sp. nov., *Achromobacter pulmonis* sp. nov. and *Achromobacter spiritinus* sp. nov., from human clinical samples. Systematic And Applied Microbiology. 2013; 36(1): 1-10.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.syapm.2012.10.003>;
 32. Brenner D J, Grimont P A D, Steigerwalt A, G, Fanning G R, Ageron E, Riddle C F. Classification of Citrobacteria by DNA Hybridization: designation of *Citrobacter farmeri* sp. nov., *Citrobacter youngae* sp. nov., *Citrobacter braakii* sp. nov., *Citrobacter werkmanii* sp. nov., *Citrobacter sedlakii* sp. nov., and three unnamed *Citrobacter* genomospecies. International Journal of Systematic Bacteriology. 1993; 43(4): 645-658.
<http://dx.doi.org/10.1099/00207713-43-4-645>;
 33. Ching P R, Vostal A, Narayanan S. Emphysematous Cystitis and Pyelitis. The

- American Journal Of Medicine. 2021; 134(11): 559-560.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2021.05.006>;
34. Aldová E, Schindler J, Iourek, J, Nemeč A, Urbálková P. Detection and Identification of *Citrobacter sedlakii* in the Czech Republic. Zentralblatt Für Bakteriologie. 1997; 285(3): 389-396. [http://dx.doi.org/10.1016/s0934-8840\(97\)80005-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0934-8840(97)80005-9);
 35. Dyer J, Hayani K C, Janda W M, Schreckenberger P C. *Citrobacter sedlakii* meningitis and brain abscess in a premature infant. Journal Of Clinical Microbiolog. 1997 35(10): 2686-2688.
<http://dx.doi.org/10.1128/jcm.35.10.2686-2688.1997>;
 36. Mezzatesta M L, Gona F, Stefani S. *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. Future Microbiology. 2012; 7(7): 887-902.
<http://dx.doi.org/10.2217/fmb.12.61>;
 37. Souza K L da S, Fuzatti J V S, Carmago R C, Pinto M dos S, Silva T K, Frias D F R. Prevalência de Bactérias Multirresistentes na Cavidade Nasal de Equinos Assintomáticos para Doenças Respiratórias. Revista Univap. 2020; 26(52): 107.
<http://dx.doi.org/10.18066/revistaunivap.v26i52.2515>;
 38. Fernandes W R. Achados microbiológicos do lavado traqueobrônquico de equinos clinicamente sadios e daqueles portadores de afecções do sistema respiratório atendidos no HOVET, USP. ARS Veterinaria. 2011; 27(2): 73-79;
 39. Duarte R R. Perfil Bacteriológico de Biópsia Pulmonar e Lavado Traqueobrônquico de Equinos Sadios Mantidos em Sistema Extensivo e Estabulado. Botucatu. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu; 2007. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/89124/duarte_rr_me_botf_mvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 25 nov. 2022;
 40. Alshammari A, Alharbi M, Alghamdi A, Alharbi S A, Ashfaq U A,; Qamar M T U, Ullah A, Irfan M, Khan A, Ahmad S. Computer-Aided Multi-Epitope Vaccine Design against *Enterobacter xiangfangensis*. International Journal Of Environmental Research And Public Health. 2022; 19(13): 7723.
<http://dx.doi.org/10.3390/ijerph19137723>;
 41. Iimura M, Hayashi W, Aarai E, Natori T, Horiuchi K, Matsumoto G, Tanaka H, Soga E, Nagano Y, Nagano N. Detection of *Acinetobacter pittii* ST220 co-producing NDM-1 and OXA-820 carbapenemases from a hospital sink in a non-endemic country of NDM. Journal Of Global Antimicrobial Resistance. 2020; 21: 353-356.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2019.11.013>;
 42. Chopjitt P, Putthanachote N, Ungcharoen R, Hatrongjit R, Boueroy P, Akeda Y, Tomono K, Hamada S, Kerdsin A. Genomic Characterization of Clinical Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter pittii* Isolates. Microorganisms. 2021; 9(2): 242.

- <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9020242>;
43. Aljorayid A, Viau R, Castellino L, Jump R L P. *Serratia fonticola*, pathogen or bystander? A case series and review of the literature. *Idcases*. 2016; 5: 6-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idcr.2016.05.003>;
 44. Garcia M E, Lanzarot P, Costas E, Rodas V L, Marín M, Blanco J L. Isolation of *Serratia fonticola* from skin lesions in a Nile Crocodile (*Crocodylus niloticus*) with an associated septicaemia. *The Veterinary Journal*. 2008; 176(2): 254-256. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.02.025>;
 45. Ruan J, Wang W, Zhang T, Zheng T, Zheng J, Yu S, Yu D, Huang Y. Establishment of a duplex real-time qPCR method for detection of *Salmonella* spp. and *Serratia fonticola* in fishmeal. *Amb Express*. 2020 10(1): 1-8. <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-020-01144-x>;
 46. Sapkota S, Karn M, Regmi S M, Thapa S, Miya F U, Yonghang S. *Providencia rettgeri* infection complicating cranial surgery: illustrative cases. *Journal Of Neurosurgery: Case Lessons*. 2021 2(8): 1-3. <http://dx.doi.org/10.3171/case21318>;
 47. Iwata S, Tada T, Hishinuma T, Tohya M, Oshiro S, Kuwahara-Arai K, Ogawa M, Shimojia M, Kirikae T. Emergence of Carbapenem-Resistant *Providencia rettgeri* and *Providencia stuartii* Producing IMP-Type Metallo- β -Lactamase in Japan. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 2020; 64(11): 1-9. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00382-20>;
 48. Patel N B, Jain G, Chandrakar S, Walikar B N. Ventilator-associated pneumonia due to carbapenem-resistant *Providencia rettgeri*. *BMJ Case Reports*. 2021; 14(7): 43908;
 49. Ishii S, Ksoll W B, Hicks R E, Sadowsky M J. Presence and Growth of Naturalized *Escherichia coli* in Temperate Soils from Lake Superior Watersheds. *Applied And Environmental Microbiology*. 2006; 72(1): 612-621. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.72.1.612-621.2006>;
 50. Ishii S, Sadowsky M J. *Escherichia coli* in the Environment: implications for water quality and human health. *Microbes And Environments*. 2008. 23(2): 101-108. <http://dx.doi.org/10.1264/jsme2.23.101>;
 51. Saputra S, Jordan D, Mitchell T, Wong H S, Abraham R J, Kidsley A, Turnidge J, Trott D J, Abraham S. Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolated from companion animals in Australia. *Veterinary Microbiology*. 2017; 211: 43-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.09.014>;
 52. Reshadi P, Heydari F, Ghanbarpour R, Bagheri M, Jajarmi M, Amiri M, Alizade H, Badouei M A, Sahraei S, Adib N. Molecular characterization and antimicrobial resistance of potentially human-pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from riding horses. *Bmc Veterinary Research*. 2021; 17(1): 1-9. <http://dx.doi.org/10.1186/s12917-021-02832-x>.

