

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CAMPUS UMUARAMA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E
SAÚDE ANIMAL

GIOVANA HASHIMOTO NAKADOMARI

**DETECÇÃO FENOTÍPICA DE BACTÉRIAS AMBIENTAIS MULTIRRESISTENTES
DE IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA ISOLADAS DO HOSPITAL
VETERINÁRIO UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**

UMUARAMA
Janeiro/2022

GIOVANA HASHIMOTO NAKADOMARI

**DETECÇÃO FENOTÍPICA DE BACTÉRIAS AMBIENTAIS MULTIRRESISTENTES
DE IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA ISOLADAS DO HOSPITAL
VETERINÁRIO UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal da Universidade Estadual de Maringá para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Sheila Rezler Wosiacki

UMUARAMA
Janeiro/2022

FOLHA DE APROVAÇÃO

GIOVANA HASHIMOTO NAKADOMARI

DETECÇÃO FENOTÍPICA DE BACTÉRIAS AMBIENTAIS MULTIRRESISTENTES DE IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA ISOLADAS DO HOSPITAL VETERINÁRIO UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Profa. Dra. Sheila Rezler Wosiacki
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof. Dr. Rodrigo Garcia Motta
Universidade Estadual de Maringá (Membro)

Prof. Dr. Ricardo Antonio Pilegi Sfaciotte
Universidade do Estado de Santa Catarina (Membro)

Aprovada em: de de 2022.

Local da qualificação: ambiente virtual (reunião on-line)

RESUMO

A resistência antimicrobiana tem como causa principal o uso indiscriminado de antimicrobianos tanto na medicina veterinária como na medicina humana. O monitoramento constante dos ambientes hospitalares e a identificação de bactérias resistentes, seja isoladas de pacientes, funcionários ou ambiente, são medidas que devem ser adotadas para prevenção e controle de infecções hospitalares, além de impedir a disseminação dessas bactérias para a comunidade. Assim, o objetivo deste estudo foi detectar bactérias ambientais multirresistentes de importância em saúde pública isoladas de ambientes do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Estadual de Maringá nos anos de 2017 e 2018, bem como relatar o perfil de resistência antimicrobiana dos grupos bacterianos isolados e mapear os ambientes do hospital veterinário que podem atuar como possíveis fontes de bactérias multirresistentes. Foram realizados *swabs* de diferentes superfícies, compreendendo parede, móveis, maçanetas, chão e gaiolas e pias quando presente, de 15 ambientes hospitalares no ano de 2017 e 23 ambientes no ano de 2018 para detecção de *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., bactérias produtoras de ESBL e carbapenemases. Após o período de incubação, os isolados foram submetidos a avaliação morfológica, identificação bioquímica e teste de suscetibilidade antimicrobiana. Ao todo foram isolados 60 cepas bacterianas nas duas coletas, sendo 23 cepas em 2017 e 37 cepas em 2018. Pelo menos um dos microrganismos de interesse estavam presentes em 73,33% e 82,61% dos ambientes pesquisados para o ano de 2017 e 2018, respectivamente. Os ambientes que apresentaram maior número de isolados foram considerados áreas de alto tráfego de pessoas e animais, como os ambientes Internamento da Médica, Recepção, Copa, Banheiros e Sala da Residência. Apenas o ambiente da Farmácia não apresentou nenhuma das bactérias de interesse nos anos pesquisados. Diante desses resultados são necessárias intervenções eficazes no ambiente hospitalar, que devem se concentrar em medidas de higiene, como boas práticas de antisepsia das mãos dos funcionários e visitantes, bem como em protocolos sistemáticos de limpeza e desinfecção englobando todos os locais do ambiente hospitalar.

Palavras-chave: resistência antimicrobiana, infecção nosocomial, hospital veterinário

ABSTRACT

Antimicrobial resistance has as its main cause the indiscriminate use of antimicrobials in both veterinary and human medicine. Constant monitoring and identification of resistant bacteria, whether isolated from patients, employees or environments that must be adopted for the prevention and control of hospital infections, in addition to preventing the spread of these bacteria to the community. Thus, the objective of this study was to detect multidrug-resistant environmental bacteria of importance in public health isolated from State University environments of the Hospital Veterinário Universitário da Maringá in the years 2017 and well resistance in the years 2018, related to the profile of isolated antimicrobial groups and map the from the veterinary hospital that can act as possible sources of multidrug-resistant bacteria. 15 outdoor areas were created in 2017 and 23 environments were created in the year of detection of *Staphylococcus* spp. of ESBL and carbapenemases. After the incubation period, the isolates were selected for morphotintural evaluation, biochemical identification and antimicrobial susceptibility testing. In all, 60 bacterial strains were isolated in the two collections, 23 strains in 2017 and 37 strains in 2018. At least one of the microorganisms of interest were present in 73.33% and 82.61% of the environments surveyed for the year of 2017 and 2018, respectively. The environments with the highest number of isolates were considered areas of high traffic of people and animals, such as the Physician's Hospitalization, Reception, Pantry, Bathrooms and Residence Room environments. Only the Pharmacy environment did not present any of the bacteria of interest in the years surveyed. These results are effectively implemented in the hospital environment, which should be focused on hygiene, such as measures of antisepsis measures of the employees' hands and visits, encompassing as well as the systematic protocols of cleaning and disinfection in the hospital environment.

Keywords: antimicrobial resistance, nosocomial infection, veterinary hospital

Sumário

1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 <i>Enterococcus</i> spp.	8
2.2 <i>Staphylococcus</i> spp.....	10
2.3 BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS	11
2.4 INFECÇÕES NOSOCOMIAIS E <i>ONE HEALTH</i>	13
3. OBJETIVO	16
3.1 OBJETIVO GERAL.....	16
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
5. RESULTADOS	21
6. DISCUSSÃO	28
7. CONCLUSÃO	34
8. REFERÊNCIAS	34
9. ARTIGO CIENTÍFICO	47
10. ANEXO	77
10.1 NORMAS DE PUBLICAÇÃO DO ARTIGO	77

1. INTRODUÇÃO

O surgimento de cepas bacterianas multirresistentes é resultado do uso incorreto dos antimicrobianos e também da capacidade das bactérias em disseminar genes de resistência. As consequências deste fenômeno, como por exemplo a falha no tratamento de infecções bacterianas é um problema tanto para animais como para humanos. Falhas nos programas de controle de infecção hospitalar também podem resultar em microrganismos resistentes além de facilitar a sua propagação dentro de ambientes hospitalares. Os principais microrganismos multirresistentes causadores de infecções hospitalares são: *Staphylococcus* meticilina resistente (MRS), *Enterococcus* vancomicina resistente (VRE), bactérias Gram-negativas produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) e bactérias produtoras de carbapenemases. Todos estes são microrganismos capazes de adquirir e doar genes de resistência com facilidade, podendo acumular diversos genes que promovem resistência a diversas classes de antimicrobianos.

Em se tratando de ambiente hospitalar veterinário, além dos animais e dos próprios médicos veterinários e funcionários, o ambiente hospitalar pode funcionar como uma importante fonte de bactérias resistentes, que podem ser veiculadas para outros locais, pacientes e tutores, além da possibilidade de serem transportadas para fora do ambiente hospitalar. Por isso, práticas de higiene e desinfecção devem ser adotadas rotineiramente em todos os ambientes hospitalares, com a finalidade de reduzir a possibilidade de sobrevivência dessas bactérias e sua disseminação.

Assim, a identificação de bactérias multirresistentes e seu perfil de resistência são importantes para evitar a transmissão de infecção nosocomial, propagação de genes de resistência, e também sua propagação na comunidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Enterococcus* spp.

As bactérias do gênero *Enterococcus* spp., família *Enterococcaceae*, são caracterizadas morfológicamente como cocos Gram-positivos, não-esporulados, apresentando-se isolados, em pares ou cadeias curtas, sendo a maioria oxidase e catalase-negativa (BYAPPANAHALLI et al., 2012; FOULQUIÉ MORENO et al., 2006). É um microrganismo ubíquo, comensal da microbiota intestinal de vertebrados e invertebrados, e já foi isolado a partir do solo, água, esgoto, plantas, alimentos, além de ser encontrado em ambientes contaminados por fezes de humanos (CARVALHO et al., 2006; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019; HUGAS; GARRIGA; AYMERICH, 2003; KIM et al., 2016; MULLER et al., 2001; NASER et al., 2005; NIEMI et al., 2012).

São organismos extremamente resistentes e suportam amplas faixas de temperatura (10 a 45°C) e pH (4,4 a 9,6), ambientes hipertônicos com 6,5% de cloreto de sódio, hidrolisam esculina e crescem em meio contendo 40% de bile, e suportam condições de dessecação (60°C por até 30 minutos) (ALI et al., 2014; FISHER; PHILLIPS, 2009; MESSER; DUFOUR, 1998; MORAES et al., 2012). A temperatura ótima de crescimento é entre 30 a 35°C por 18 a 24 horas em ágar BHI (*Brain Heart Infusion*) em aerobiose, e pH ótimo de 7,5 (GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019; MURRAY, B. E., 1990; VAN DEN BERGHE; DE WINTER; DE VUYST, 2006). Também são capazes de crescer em anaerobiose (DOMIG; MAYER; KNEIFEL, 2003), sendo considerado um microrganismo anaeróbio facultativo (ALI et al., 2014). Podem ser hemolíticos (hemólise alfa ou beta) ou não-hemolíticos em ágar sangue (DOMIG; MAYER; KNEIFEL, 2003).

Foram considerados, por muitos anos, microrganismos pouco importantes clinicamente, mas em pouco tempo se tornaram um importante patógeno tanto na medicina humana quanto na veterinária (LEE et al., 2003; SUKMAWINATA et al., 2018). As principais espécies de importância clínica em humanos e animais são *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, importantes causadores de infecções nosocomiais (ALI et al., 2014; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019; MURRAY, B. E., 1990; OSSIPRANDI et al., 2008; RATHNAYAKE; HARGREAVES; HUYGENS, 2011; SUKMAWINATA et al., 2018; THU et al., 2019). Mesmo presente como comensais do

trato gastrointestinal de humanos e animais saudáveis (BLAKE; SUCHODOLSKI, 2016; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019), *Enterococcus* spp. podem atuar como oportunistas, causando infecções em pacientes hospitalizados devido a sua capacidade em sobreviver e adaptar-se ao ambiente hospitalar. Adicionando-se a essas características a capacidade de evadir o sistema imune, de ligar-se a células hospedeiras e materiais inertes, capacidade de formar biofilmes e resistência intrínseca e adquirida, todos esses fatores aumentam seu potencial patogênico (GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019; MOHAMED; HUANG, 2007). Podem estar presentes em feridas, causar infecções do trato urinário, meningites, endocardite, bacteremia, osteomielite e infecções cirúrgicas (BEGANOVIC et al., 2018; LINDEN, 2007).

Esse gênero merece destaque por sua resistência antimicrobiana, geralmente resultado de um dos mecanismos: modificação do alvo, alterações que afetam o acesso da droga à célula-alvo ou inativação enzimática (ECONOMOU et al., 2017). Possui resistência intrínseca, também chamada de constitutiva, o que torna o tratamento difícil, sendo observado para penicilinas, sulfonamidas, lincosamidas e aminoglicosídeos (baixo nível) (GIRAFFA; GIORGIO, 2002). Possui resistência adquirida, o que explica seu surgimento como patógeno nosocomial importante devido a possibilidade de transferência de genes de resistência (LEBRETON; SCHAIK; MANSON, 2013; LEE et al., 2003; MILLER; MUNITA; ARIAS, 2014; SUKMAWINATA et al., 2018; VAN DEN BOGAARD; STOBBERINGH, 2000). Exemplos de resistência adquirida é observada para penicilina e ampicilina, aminoglicosídeos (alto nível) e glicopeptídeos, especialmente à vancomicina (ECONOMOU et al., 2017). A resistência adquirida ocorre por aquisição de elementos genéticos móveis, como transposons ou plasmídeos, ou por troca de cromossomos e mutações (GUERRERO-RAMOS et al., 2016). Dentro da resistência adquirida, os enterococos resistentes à vancomicina (VRE) são a maior preocupação e hoje um grande desafio, pois são altamente resistentes a todas as drogas utilizadas no tratamento convencional de infecções enterocócicas (GIRAFFA; GIORGIO, 2002). A vancomicina era considerado um medicamento “de última escolha”, utilizada no tratamento de infecção por enterococos resistentes a aminoglicosídeos, porém, devido ao seu uso indiscriminado

no início de 1980, logo cepas VRE foram relatadas e estão disseminadas mundialmente (BRAIEK; SMAOUI, 2019; LEVINE, 2006; MURRAY, B.E., 2000).

Devido a multirresistência, principalmente as infecções por VRE são relacionadas com maior tempo de hospitalização, aumento dos custos do tratamento e mortalidade (CHIANG et al., 2016; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019). O manejo desses pacientes também se torna complicado pelo custo do tratamento, necessidade de salas de isolamento e precauções de contato, limpeza e desinfecção (OLIVEIRA et al., 2020).

2.2 *Staphylococcus* spp

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, catalase-positivos, anaeróbicos facultativos (SHOEN et al., 2019). São organismos comensais da pele e mucosas de humanos e animais (KLUYTMANS; VAN BELKUM; VERBRUGH, 1997). *Staphylococcus aureus* é o isolado com maior frequência em humanos, e em cães e gatos é isolado principalmente o *Staphylococcus pseudintermedius* (BIEROWIEC; KATARZYNA; RYPU, 2016; FEBLER et al., 2018; GRÖNTHAL et al., 2017; WALTHER et al., 2012).

O surgimento de *Staphylococcus* resistentes à meticilina (MRS) é altamente preocupante. A resistência à meticilina é conferida pela presença do gene *mecA* e *mecC*, que codifica uma proteína de ligação a penicilina alterada (PBP2a ou PBP2'), que possui baixa afinidade para os antimicrobianos beta-lactâmicos (ORTIZ-DÍEZ et al., 2020; UBUKATA et al., 1989).

MRS é um importante patógeno nosocomial que pode ser transmitido entre animais e humanos, e é uma preocupação emergente tanto na medicina humana como na veterinária (HANSELMAN et al., 2006; ISHIHARA et al., 2010). É responsável por uma ampla diversidade de infecções em todo o mundo, variando de infecções leves de pele a doenças que podem levar ao óbito (AIRES-DE-SOUSA, 2017). O transporte assintomático dessa bactéria é um fator de risco para o estabelecimento de infecção, que inicia a partir da colonização e depende de diversos fatores como fatores ambientais, bacterianos e do hospedeiro (VERHOEVEN et al., 2014). Em veterinária são tidos como fatores de risco para infecção por MRS a duração da

internação, animais submetidos a procedimentos cirúrgicos e uso de antimicrobianos anteriormente (BALEN et al., 2013).

Staphylococcus aureus embora seja comumente encontrado em humanos e animais, em cães e gatos as infecções por *S. pseudintermedius* resistente à meticilina (MRSP) são mais prevalentes (DALEY et al., 2016). No entanto, devido a sua característica zoonótica, a transmissão de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e MRSP entre animais de estimação e humanos e vice-versa já foi descrito (GOODACRE et al., 1997; GUARDABASSI; LOEBER; JACOBSON, 2004; MORRIS et al., 2010; O'MAHONY et al., 2005; ORTIZ-DÍEZ et al., 2020; WEESE, J. S. et al., 2006; WORTHING et al., 2017), inclusive dentro de ambientes veterinários (HANSELMAN et al., 2006).

MRSP já foi encontrado colonizando veterinários e animais doentes e pessoas portadoras podem carregar e disseminar MRSA e/ou MRSP, que são resistentes a múltiplos agentes antimicrobianos e que podem se disseminar nas superfícies ambientais de hospitais veterinários e instrumentos médicos (FEBLER et al., 2018; GOODACRE et al., 1997). Assim, sabe-se que existe um ciclo de transmissão dinâmica desse patógeno em hospitais veterinários semelhante ao que ocorre em ambientes hospitalares humanos (HELLER et al., 2009; LOEFFLER et al., 2005).

Uma vez que há uma troca de MRSA e MRSP em ambas direções entre humanos e animais, nas quais o ambiente também pode estar envolvido, é importante rastrear os animais, veterinários e o ambiente hospitalar para a presença de tais agentes. O monitoramento de MRS deve ser promovido em programas de vigilância veterinária sobre resistência antimicrobiana a fim de esclarecer sobre a possível contribuição dos animais de companhia para a propagação de MRS (LOEFFLER et al., 2005), e a coleta de informações sobre sua epidemiologia é uma ferramenta útil para o planejamento de programas de controle de infecção (ROUDAUD; ALLANO, 2018).

2.3 BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS

As bactérias Gram-negativas também são importantes patógenos nosocomiais, frequentemente isoladas causando infecções do trato urinário, trato respiratório

inferior e feridas cirúrgicas. Com o aumento do uso de fármacos beta-lactâmicos, conseqüentemente houve o desenvolvimento de resistência mediada por várias beta-lactamases, incluindo a ESBLs (beta-lactamase de espectro estendido), que são um grupo amplo e heterogêneo de enzimas bacterianas que hidrolisam a estrutura do anel beta-lactâmico, conferindo resistência a essa classe de antimicrobianos, incluindo penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos (ROYDEN et al., 2019; WALTHER; TEDIN; LÜBKE-BECKER, 2017). Entretanto, essa resistência não se estende às cefamicinas e aos carbapenêmicos, e são inibidos por inibidores de beta-lactamase, como o ácido clavulânico e tazobactam (LIVERMORE, 1995; PATERSON; BONOMO, 2005).

Genes ESBL podem ser facilmente transferidos horizontalmente para outras espécies bacterianas devido a sua localização em plasmídeos conjugativos ou integrons, especialmente devido a pressão de seleção exercida pelo antibiótico (DENNESEN; BONTEN; WEINSTEIN, 1998) e resultar em bactérias com fenótipos multirresistentes (ROYDEN et al., 2019). A maioria das ESBLs, atualmente conhecidas são das famílias TEM, SHV-1 e CTX-M (COQUE et al., 2008; BUSH e JACOBY, 2010).

Os carbapenêmicos são considerados medicamentos de amplo espectro e de última escolha para o tratamento de infecções causadas bactérias multirresistentes, incluindo as infecções causadas por ESBLs (PATERSON; BONOMO, 2005). Seu mecanismo de ação consiste na sua ligação com às proteínas bacterianas de ligação à penicilina (PBPs), que promovem o alongamento e a ligação do peptidoglicano da parede celular, levando à lise bacteriana (PAPP-WALLACE et al., 2011). Assim, outra resistência importante em bactérias Gram-negativas envolve a produção de uma enzima chamada carbapenemase, uma beta-lactamase capaz de hidrolisar todos os fármacos beta-lactâmicos, incluindo os carbapenêmicos (PRESTINACI; PEZZOTTI; PANTOSTI, 2015), resultando em infecções potencialmente letais.

A transmissão de genes codificadores de enzimas carbapenemases entre bactérias pode ocorrer entre humanos e animais, e em níveis hospitalares o meio ambiente tem papel reconhecido na transmissão cruzada (FERNANDO; GRAY; GOTTLIEB, 2017), constituindo também uma preocupação de saúde pública (TAGGAR et al., 2020). As carbapenemases mais importantes são: *Klebsiella*

pneumoniae carbapenemase (KPC), as oxacilinases– 48 (OXA-48), as metalo-beta-lactamase zinco-dependentes (VIM, IMP e NDM) (NORDMANN, P.; NAAS; POIREL, 2011), e a AmpC, que é uma cefalosporinase associada a perda de porina (NORDMANN, P et al., 2012).

2.4 INFECÇÕES NOSOCOMIAIS E *ONE HEALTH*

Infecções nosocomiais são definidas como aquelas adquiridas em hospitais ou associadas a eles, não sendo o motivo primário da internação do paciente. São responsáveis por ocasionar altos índices de morbimortalidade, e além da possibilidade de óbito, são observados elevação dos custos financeiros dispendidos pelos hospitais e pacientes e extensão no tempo de internamento do paciente (BREATHNACH, 2013; SUN, 2016). Muitas vezes são infecções difíceis de tratar devido à alta patogenicidade do microrganismo envolvido, falha no tratamento com antimicrobianos e desenvolvimento de resistência (BARTASH; NORI, 2017).

Para entender a epidemiologia das infecções nosocomiais, além dos dados relacionados ao paciente, tempo e local, deve-se ter conhecimento sobre o microrganismo envolvido para compreender a rota de transmissão e assim obter informações para realizar o controle de infecções (FRIEDRICH, 2019). A infecção nosocomial e o aumento da resistência antimicrobiana são fatores que se relacionam: a resistência permite a sobrevivência de bactérias em ambientes nos quais o uso de antimicrobianos são amplamente utilizados, e o ambiente hospitalar além de favorecer os microrganismos resistentes pela supressão dos suscetíveis, também age como disseminador de microrganismos resistentes (MURRAY, 1990).

Estima-se que até 2050, dez milhões de pessoas por ano no mundo morrerão devido à resistência antimicrobiana (NGUYEN-VIET et al., 2016), e o ambiente hospitalar é considerado um dos fatores predisponentes para o desenvolvimento de infecções, junto com os fatores relacionados ao paciente e intervenções médicas. Tendo como foco o ambiente hospitalar, o principal meio de disseminação de bactérias resistentes e seus genes ocorre pelas mãos dos profissionais. A falta de higiene, o controle deficiente de infecções, a falta de conhecimento sobre o uso dos antimicrobianos, bem como a superlotação, contaminação ambiental, movimentação de portadores e carência de quadro de pessoal, aumentam o risco de ocorrência e

propagação de infecções cruzadas (BREATHNACH, 2013; MCEWEN; COLLIGNON, 2018).

Onde quer que sejam utilizados antimicrobianos, estes locais servirão como reservatórios de bactérias e genes de resistência devido a fácil movimentação desses microrganismos. São exemplos de reservatórios os humanos, animais, hospitais, comunidade ou ambiente (HOLMES et al., 2016; HUIJBERS et al., 2015). Muitos microrganismos podem ser patógenos causadores de infecções nosocomiais e são um importante problema de saúde pública, como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (BENEDICT; MORLEY; VAN METRE, 2008; FRIEDRICH, 2019), bactérias Gram-negativas produtoras de beta-lactamase de espectro estendido ou carbapenemases (BENEDICT; MORLEY; VAN METRE, 2008; BREATHNACH, 2013; FRIEDRICH, 2019), enterococos resistente à vancomicina (VRE) (FRIEDRICH, 2019).

Devido a conexão das áreas humana, animal e ambiental em relação à AMR, deve-se implementar neste cenário o conceito de “*One Health*” (“Uma Saúde”), uma vez que o fenômeno de resistência antimicrobiana pode ser transferida do ambiente para humanos e animais e vice-versa. Busca-se integrar e aplicar os conhecimentos baseados em abordagens multissetoriais para o desenvolvimento de programas de vigilância, novos diagnósticos e terapêuticas, permitindo a criação de políticas mais eficazes, interligando pesquisa e educação (HOLMES et al., 2016; MCEWEN; COLLIGNON, 2018; NGUYEN-VIET et al., 2016), tanto em nível local, quanto nacional e mundial (CHO; JACKSON; FRYE, 2020). A presença de clones de plasmídeos em bactérias de animais, humanos e fontes ambientais fortalecem a importância da implementação de políticas interligando esses setores (KOPOTSA; SEKYERE, 2019).

Em um trabalho realizado Benedict et al. (2008), uma das medidas de biossegurança relatadas para o controle de infecções hospitalares e para o sucesso de qualquer programa que vise mitigar os riscos de sua ocorrência, é a educação dos funcionários. Estes devem passar por um treinamento que vise informá-los sobre os riscos e a importância das medidas de controle que devem ser estabelecidas. Também são englobados na prevenção de infecções hospitalares o isolamento de pacientes portadores de infecções, lavagem das mãos, desinfecção adequada do ambiente hospitalar (FRIEDRICH, 2019; LARSON, 1997), assepsia no tratamento de feridas, instrumentação cirúrgica, manejo adequado de antimicrobianos

(BREATHNACH, 2013; MURPHY; WEESE; MCEWEN, 2010) e diagnóstico microbiológico (FRIEDRICH, 2019).

O manejo dos antimicrobianos junto com a higiene das mãos, são as medidas mais difíceis de introduzir no ambiente hospitalar, por serem hábitos já intrínsecos no profissional da saúde (BREATHNACH, 2013). Entretanto, de acordo com Friedrich (2019) a solução para este problema requer intervenções múltiplas e complexas, por meio de colaboração mútua e multidisciplinar de todos os países da necessidade de prevenir tanto a AMR quanto as infecções hospitalares.

As políticas de regulamentação do uso de antimicrobianos, programas de vigilância, gestão e monitoramento, são ações fundamentais para reduzir o fenômeno da AMR e o surgimento de novos fenótipos e genótipos de resistência, bem como mensurar a eficácia das intervenções tomadas (HUR et al., 2020; MCEWEN; COLLIGNON, 2018; WEESE; PAGE; PRESCOTT, 2013). A vigilância da resistência antimicrobiana deve ser realizada por amostragens coletadas de humanos, animais e ambientes, e para melhor entendimento das rotas de disseminação dos genes de resistência, o conceito *One Health* deve ser adotado para avaliar intervenções apropriadas e futuras pesquisas epidemiológicas (SEKYERE, 2019). Os dados obtidos devem ser apresentados às partes interessadas (MCEWEN; COLLIGNON, 2018), demonstrando como as bactérias e seus genes de resistência se movem com facilidade entre as próprias bactérias, humanos, animais e ambientes (HUIJBERS et al., 2015).

Em hospitais humanos assume-se que 10 a 70% das infecções hospitalares são preveníveis com medidas de controle de infecção (HARBARTH; SAX; GASTMEIER, 2003), já sendo utilizado como mecanismo importante para reduzir a propagação de resistência antimicrobiana (COLLIGNON, 2015). Porém, na área veterinária, estes programas ainda são pouco utilizados (MURPHY; WEESE; MCEWEN, 2010; WEESE; PAGE; PRESCOTT, 2013), e a ocorrência de infecção hospitalar ainda é pouco conhecida e relatada. Contudo, suas consequências zoonóticas devido a estreita relação entre humanos e animais é um risco a saúde pública (MURPHY; WEESE; MCEWEN, 2010; STULL; WEESE, 2015). Nesse contexto, a identificação de um ambiente com risco de ocorrer infecção, que pode ser transmitida para pacientes, tem como objetivo direcionar ações preventivas antes

mesmo da ocorrência de um surto (BURGESS; MORLEY, 2018), e a identificação dos patógenos assim como o conhecimento do perfil de resistência é fundamental para definição de estratégias antimicrobianas clínicas apropriadas (LIU et al., 2018).

Portanto, a prevenção e o controle das infecções hospitalares por microrganismos resistentes requerem adoção de várias medidas, e para isso os diversos setores de um hospital devem estar em consonância, tendo em vista a complexidade deste problema (BREATHNACH, 2013; COLLIGNON; MCEWEN, 2019).

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo detectar bactérias ambientais multirresistentes de importância em saúde pública isoladas do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Estadual de Maringá nos anos de 2017 e 2018.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Relatar o perfil de resistência antimicrobiana dos grupos bacterianos isolados;
- Mapear os ambientes do hospital veterinário que são fonte de bactérias multirresistentes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras hospitalares: Foram realizadas coletas de amostras ambientais do Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) do Campus Regional de Umuarama (CAU) em março de 2017 e em março de 2018. As amostras foram coletadas em 15 diferentes ambientes hospitalares no ano de 2017 (Centro cirúrgico I, Esterilização, Farmácia, Almoxarifado de grandes, Internamento cirúrgica, Sala MPA I, Internamento médica, Ambulatório I, Ambulatório II, Centro de Imagem, Recepção, Secretaria, Sala dos residentes, Copa, Banheiros) e no ano de

2018 foram amostrados mais oito ambientes além dos 15 ambientes do ano anterior, totalizando 23 ambientes (Centro cirúrgico II, Téc. Operatória, Centro Cirúrgico de grandes, Sala MPA II, Ambulatório III, Patologia clínica, Parasitologia e Sala professor).

Nos 15 ambientes avaliados em 2017 foram coletados 3 *swabs* iguais de diferentes superfícies, compreendendo parede, móveis, maçanetas, chão e gaiolas e pias (quando presentes). Cada *swab* foi inoculado em um dos seguintes meios de cultura: a) 2 mL de caldo enterococcosel (BBL®), para detecção de *Enterococcus* spp.; b) 2 mL de caldo Tryptone Soya Broth (TSB) (Oxoid®) a 10% de NaCl (Nuclear®), para detecção de *Staphylococcus* spp.; c) 10 mL de caldo TSB com 1µg/mL de meropenem (Laborclin®) (protocolo fornecido por Sfaciotte, R.A.P., ainda não publicado), para detecção de bactérias resistentes a carbapenêmicos. Nos 23 ambientes avaliados no ano de 2018 foram coletados 4 *swabs*, inoculados em um dos seguintes meios de cultura: a) 2 mL de caldo enterococcosel (BBL®), para detecção de *Enterococcus* spp.; b) 2 mL de caldo Tryptone Soya Broth (TSB) (Oxoid®) a 10% de NaCl (Nuclear®) e 6µg/mL de oxacilina, para detecção de *Staphylococcus* spp. resistente à meticilina (MRS); c) 15 mL de caldo TSB com 2µg/mL de ceftriaxona (Laborclin®), para detecção de bactérias ESBL; d) 10 mL de caldo TSB com 1µg/mL de meropenem (Laborclin®) (protocolo fornecido por Sfaciotte, R.A.P., ainda não publicado), para detecção de bactérias resistentes a carbapenêmicos.

Detecção de *Enterococcus* spp: Os *swabs* embebidos em caldo enterococcosel foram incubados a 36°C± 0,5°C por 24 a 48 horas. As amostras cujo meio apresentou-se de cor preta foram semeadas pela técnica de esgotamento em ágar nutriente (Kasvi®) e incubadas a 36°C±0,5°C por 24 a 48 horas. As colônias puras foram submetidas à técnica de disco-difusão com vancomicina e gentamicina, avaliação morfotintorial pela coloração de Gram e identificação bioquímica pelas provas de catalase, bile esculina e crescimento em caldo TSB com 6,5% de NaCl para identificação de *Enterococcus* spp. Os antimicrobianos testados por disco-difusão para todos os *Enterococcus* spp. isolados foram: beta-lactâmicos aminopenicilínicos (ampicilina 10µg); glicopeptídeos (vancomicina 30µg e teicoplanina 30µg); aminoglicosídeos (gentamicina 10µg e 120µg, estreptomicina 10µg e 300µg); e fenicol (cloranfenicol 30µg). Nos isolados de 2017 foram também testados os seguintes

antimicrobianos: beta-lactâmico penicilínico (penicilina G 10U); macrolídeos (eritromicina 15µg); ansamicina (rifampicina 5µg); nitrofurantoína (nitrofurantoína 10mcg); fluoroquinolonas (2ª geração – enrofloxacina 5µg, e ciprofloxacina 5µg e 3ª geração – levofloxacina 5µg); tetraciclinas (tetraciclina 30µg e doxiciclina 30µg).

Detecção de *Staphylococcus* spp. resistente à meticilina (MRS): Os *swabs* embebidos em caldo TSB a 10% de NaCl, foram incubados a 36°C±0,5°C por até 24 horas. Em caso de turvação do meio, as amostras foram semeadas pela técnica de esgotamento em ágar nutriente e incubadas a 36°C±0,5°C durante 18 a 24 horas. As colônias puras foram submetidas à técnica de disco-difusão utilizando discos de penicilina, oxacilina e cefoxitina para detecção de MRS, avaliação morfotintorial pela coloração de Gram, identificação bioquímica com as provas de catalase, oxidase, coagulase, urease, fermentação de glicose, sacarose e manitol, resistência à polimixina B (300µg) e produção de acetoina pela prova de Vogues-Proskrauer para a identificação das espécies de estafilococos. Os antimicrobianos testados por disco-difusão para todos os *Staphylococcus* spp. foram: beta-lactâmico penicilínico (penicilina G 10U); beta-lactâmico penicilínico semi-sintético (oxacilina 1µg); cefamicínico (cefoxitina 30mcg); glicopeptídeo (vancomicina 30µg); aminoglicosídeos (gentamicina 10µg e amicacina 30µg); macrolídeos (eritromicina 15µg); lincosamina (clindamicina 2µg). Nos isolados de 2017 também foram testados: glicopeptídeo (teicoplanina 30µg); oxazolidinona (linezolida 30µg); macrolídeos (azitromicina 15µg); ansamicina (rifampicina 5µg); fenicol (cloranfenicol 30µg); nitrofurantoína (nitrofurantoína 10mcg); fluoroquinolonas (2ª geração – enrofloxacina 5µg e ciprofloxacina 5µg e 3ª geração – levofloxacina 5µg); tetraciclinas (tetraciclina 30µg e doxiciclina 30µg); e inibidor do PABA (sulfazotrim 25µg).

Detecção de bactérias Gram-negativas resistentes à carbapenêmicos e ESBL: Os *swabs* embebidos em caldo TSB com meropenem ou ceftriaxona foram incubados a 36°C±0,5°C por até 24 horas. As amostras que turvaram o meio foram semeadas pela técnica de esgotamento em ágar MacConkey (Kasvi®) e incubadas a 36°C±0,5°C durante 18 a 24 horas. As colônias foram submetidas à avaliação morfotintorial pela coloração de Gram, prova da oxidase e identificação bioquímica pelo sistema Bactray® I e II ou III para a identificação dos gêneros de enterobactérias ou Gram-negativos não fermentadores. As colônias puras também foram submetidas à técnica

de sinergismo em disco (ANVISA, 2013) que consiste na disco-difusão com discos com meropenem, imipenem e ertapenem e discos com meropenem e imipenem associados à 10µL de solução a 0,1M de EDTA (Invitrogen®), 750µg de cloxacilina (INLAB®) e 400µg de ácido fenilborônico (INLAB®), para a detecção do tipo de carbapenemase produzida. Além disso, foi realizada a pesquisa de ESBL pelo método de disco-difusão com associação de clavulanato com aztreonam, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona e cefepima, de acordo com Souza-Junior et al. (2004).

Os antimicrobianos testados para *Acinetobacter baumannii* isolados em 2017 foram: beta-lactâmicos penicilínicos associados a inibidores de beta-lactamases (ticarcilina/clavulonato 10µg e piperacilina/tazobactam 10µg); beta-lactâmicos cefalosporínicos (3ª geração – ceftazidima 30µg e ceftriaxona 30µg e 4ª geração cefepima 30µg); cefamicínico (cefotaxima 30µg); beta-lactâmicos carbapenêmicos (imipenem 10mcg e meropenem 10µg); polipeptídeo (polimixina B 300µg); aminoglicosídeos (gentamicina 10µg, amicacina 30µg e tobramicina 10µg); quinolona (2ª geração (fluoroquinolonas) – norfloxacin 10µg e ciprofloxacina 5µg e 3ª geração – levofloxacina 5µg); tetraciclina (tetraciclina 30µg e doxiciclina 30µg); e inibidor do PABA (sulfazotrim 25µg).

Para *Burkholderia* spp. foram: beta-lactâmico aminopenicilínico associado a inibidor de beta-lactamases (ticarcilina/clavulonato 10µg); beta-lactâmico cefalosporínico de 3ª geração (ceftazidima 30µg); beta-lactâmico carbapenêmico (meropenem 10µg); e quinolona (3ª geração – levofloxacina 5µg).

E para *Pseudomonas fluorescens* foram: beta-lactâmicos penicilínicos associados a inibidores de beta-lactamases (ticarcilina/clavulonato 10µg e piperacilina/tazobactam 10µg); beta-lactâmicos cefalosporínicos (3ª geração – ceftazidima 30µg e 4ª geração cefepima 30µg); beta-lactâmicos carbapenêmicos (imipenem 10 mcg e meropenem 10µg); monobactâmico (aztreonam 15µg); aminoglicosídeos (gentamicina 10µg, amicacina 30µg e tobramicina 10µg); quinolona (2ª geração (fluoroquinolonas) – norfloxacin 10µg e ciprofloxacina 5µg e 3ª geração – levofloxacina 5µg); e polipeptídeo (polimixina B 300µg).

Detecção fenotípica de resistência antibacteriana: O perfil de resistência antimicrobiana foi realizado em Ágar Muller Hinton (Kasvi®) pelo método de disco-difusão, de acordo com (BAUER et al., 1996). Os halos de inibição foram avaliados

segundo as normas do CLSI (2015; 2008) e BrCAST (2018). O índice MAR (múltipla resistência antimicrobiana), foi calculado pelo número de antimicrobianos resistentes (considerou-se os intermediários como resistentes para este cálculo) divididos pelo número de antimicrobianos testados (HINDLER; STELLING, 2007; KRUMPERMAN, 1983).

O E-test (vancomicina) (Oxoid®) foi realizado nas cepas de *Staphylococcus* spp. que não apresentaram sensibilidade à vancomicina ou teicoplanina no teste da disco-difusão, e o E-test (meropenem) (Oxoid®) foi realizado em todas as cepas de bactérias Gram-negativas isoladas.

Detecção da produção de biofilme: A detecção fenotípica da produção de biofilme foi determinada pelo cultivo bacteriano em Ágar Vermelho Congo (CRA), conforme descrito por Freeman; Falkiner; Patrick (1989) (modificado), constituído de ágar nutriente (Himedia®) 28 g/L, sacarose (Synth®) 50 g/L e corante Vermelho Congo (Synth®) 0,8 g/L. As cepas bacterianas isoladas e caracterizadas foram semeadas em placas CRA, incubadas à temperatura de $36^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. O crescimento de colônias rugosas e pretas foi considerado como produtoras de biofilme, enquanto que as colônias lisas e vermelhas foram consideradas como não produtoras de biofilme.

MIC (Concentração Inibitória Mínima) e MBC (Concentração Bactericida Mínima): A MIC e a MBC de oxacilina foram realizadas em todos os isolados de estafilococos para caracterização de MRS. Também foi realizada a MIC e MBC para ceftriaxona e meropenem das bactérias Gram-negativas isoladas no ano de 2018 para caracterizar a resistência via produção de ESBL (ceftriaxona) e carbapenemase (meropenem). Todas as metodologias foram realizadas segundo metodologia do CLSI (2013).

Análise de dados: Os resultados obtidos foram submetidos à análise descritiva para cálculo das frequências absoluta e relativa (PETRIE; WATSON, 2009; SAMPAIO, 2010).

5. RESULTADOS

Foram isoladas 60 cepas bacterianas de importância em saúde pública, sendo 23 cepas isoladas no ano de 2017 e 37 em 2018. Em 2017, em 11 dos 15 (73,33%) ambientes hospitalares avaliados ocorreu a presença de pelo menos um dos grupos de microrganismos pesquisados. A distribuição dos grupos de bactérias pesquisadas foram: em 20% (3/15) dos ambientes (Recepção, Internamento do Setor de Clínica Médica e Sala dos Residentes) foram encontrados três grupos; em 20% (3/15) dos ambientes (Ambulatório I, Sala de Medicação Pré-anestésica (MPA) I e Almoxarifado do Setor de Grandes Animais) foram encontrados dois grupos e em 33,33% (5/15) dos ambientes foi encontrado apenas um dos grupos pesquisados (Secretaria, Internamento do Setor de Clínica Cirúrgica, Setor de Esterilização, Copa e Setor de Diagnóstico por Imagem) (Tabela 1). Em quatro ambientes (26,66%) não foi detectado nenhum dos grupos de microrganismos pesquisados, que foram Ambulatório II, Centro Cirúrgico I, Farmácia e Banheiros.

Em março de 2018, as cepas isoladas foram detectadas em 82,61% (19/23) dos ambientes hospitalares veterinários avaliados, e em 17,39% (4/23) dos ambientes (Técnica Operatória, Centro Cirúrgico do Setor de Grandes Animais, Farmácia e Internamento do Setor de Clínica Cirúrgica) não foram detectadas nenhum dos grupos de microrganismos pesquisados. Os quatro grupos de microrganismos pesquisados não foram encontrados simultaneamente em nenhum dos ambientes (Tabela 1). Três grupos de bactérias pesquisadas foram encontrados em 17,39% (4/23) dos ambientes (Setor de Esterilização, Internamento do Setor de Clínica Médica, Copa e Banheiros), dois grupos foram encontrados em 26,09% (6/23) dos ambientes (Almoxarifado do Setor de Grandes Animais, Setor de Diagnóstico por Imagem, Laboratório de Patologia Clínica, Laboratório de Parasitologia, Recepção e Sala dos residentes) e em 39,13% (9/23) dos ambientes foi encontrado apenas um dos grupos pesquisados (Centro Cirúrgico I e II, Sala de MPA I e II, Ambulatórios I, II e III, Secretaria e Sala de professores).

Os ambientes Esterilização, Almoxarifado de grandes, Internamento da Médica, Ambulatório I, Recepção, Sala dos Residentes, Copa e Banheiros foram os ambientes onde ocorreu a maior frequência de isolamento de cepas bacterianas durante o período da pesquisa (Tabela 1).

Tabela 1. Detecção de bactérias de importância em saúde pública em diferentes ambientes do HVU/UEM em coletas realizadas em março de 2017 e em março de 2018

Locais	<i>Enterococcus</i> spp.		MRS		ESBL		CR		Total de cepas	
	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018
Centro Cirúrgico I	0	0	0	1	nt	0	0	0	0	1
Centro Cirúrgico II	nt	0	nt	0	nt	1	nt	0	nt	1
Téc. Operatória	nt	0	nt	0	nt	0	nt	0	nt	0
Centro Cir. Gr.	nt	0	nt	0	nt	0	nt	0	nt	0
Esterilização	0	1	1	1	nt	1	0	0	1	3
Farmácia	0	0	0	0	nt	0	0	0	0	0
Almoxar. grandes	1	1	1	0	nt	1	0	0	2	2
Intern. Cirúrgica	0	0	0	0	nt	0	2	0	2	0
Sala de MPA I	1	1	1	0	nt	0	0	0	2	1
Sala de MPA II	nt	0	nt	1	nt	0	nt	0	nt	1
Intern. Médica	1	0	1	1	nt	1	2	1	4	3
Ambulatório I	1	1	0	0	nt	0	2	0	3	1
Ambulatório II	0	1	0	0	nt	0	0	0	0	1
Ambulatório III	nt	1	nt	0	nt	0	nt	0	nt	1
Centro de Imagem	0	0	1	1	nt	1	0	0	1	2
Patologia Clínica	nt	0	nt	1	nt	1	nt	0	nt	2
Parasitologia	nt	0	nt	0	nt	1	nt	1	nt	2
Recepção	1	1	1	1	nt	0	1	0	3	2
Secretaria	0	0	1	1	nt	0	0	0	1	1
Sala Residentes	1	0	1	1	nt	2	1	0	3	3
Copa	1	1	0	1	nt	2	0	0	1	4
Banheiros	0	0	0	1	nt	3	0	1	0	5
Sala professor	nt	0	nt	1	nt	0	nt	0	nt	1
Total	7	8	8	12	nt	14	8	3	23	37

nt: não testado

Em relação a frequência dos grupos bacterianos pesquisados em 2017 e 2018 foram isolados 15 cepas de *Enterococcus* spp. (25,00%), 20 cepas caracterizadas como MRS (33,33%), 14 (23,33%) ESBL e 11 (18,33%) bactérias resistentes aos carbapenêmicos (Tabela 1). Em 2017, *Enterococcus* spp. foram encontrados em 46,66% (7/15) dos ambientes, perfazendo 7 cepas isoladas; MRS foi encontrado em 53,33% (8/15) dos ambientes, sendo isoladas 8 cepas; e bactérias Gram-negativas resistentes a carbapenêmicos em 33,33% (5/15) dos ambientes, sendo isoladas 8 cepas. Em 2018, *Enterococcus* spp. foram encontrados em 33,78% (8/23) dos ambientes, perfazendo 8 cepas isoladas; o MRS foi encontrado em 52,17% (12/23) dos ambientes, sendo isoladas 12 cepas; bactérias Gram-negativas produtoras de ESBL (beta-lactamase de espectro estendido) em 43,48% (10/23) dos ambientes,

sendo isoladas 14 cepas; bactérias Gram-negativas resistentes a carbapenêmicos em 13,04% (3/23) dos ambientes, sendo isoladas 3 cepas.

Perfil dos *Enterococcus* spp. isolados do HVU/UEM

O perfil de resistência antimicrobiana dos *Enterococcus* spp., isolados em março de 2017 (Tabela 2), mostrou alta resistência aos aminoglicosídeos, a eritromicina e a rifampicina em todos os isolados. A menor resistência foi encontrada ao cloranfenicol (14,29%). O índice MAR variou de 0,267 a 0,867. Todas as cepas foram consideradas sensíveis à vancomicina pelo E-test. Os sete isolados de *Enterococcus* spp. foram identificados como produtores de biofilme pelo ágar vermelho congo.

Tabela 2. Perfil de resistência antimicrobiana dos *Enterococcus* spp. isolados em 2017 nos diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	<i>Enterococcus</i> spp. Recepção	<i>Enterococcus</i> spp. MPA I	<i>Enterococcus</i> spp. Sala Residência	<i>Enterococcus</i> spp. Ambulatório I	<i>Enterococcus</i> spp. Int. Médica	<i>Enterococcus</i> spp. Copa	<i>Enterococcus</i> spp. Almoxarifado Grandes	Resistência %
Penicilina	R	R	R	S	S	S	S	42,9
Ampicilina	R	R	R	S	S	R	S	57,1
Vancomicina	S	S	S	I	S	I	S	28,6
Teicoplanina	I	R	S	S	S	S	S	28,6
Gentamicina	R	R	R	R	R	R	S	85,7
Estreptomicina	R	R	R	R	R	R	R	100
Eritromicina	R	R	R	I	R	R	R	100
Clorofenicol	S	S	S	I	S	S	S	14,3
Nitrofurantoína	R	R	I	S	I	S	S	57,1
Rifampicina	R	R	R	R	R	R	R	100
Tetraciclina	R	R	R	R	R	R	S	85,7
Doxiclina	R	R	R	I	R	R	S	85,7
Ciprofloxacina	R	R	R	R	R	S	R	85,7
Enrofloxacin	R	R	R	R	R	S	S	71,4
Levofloxacin	R	R	R	S	S	S	S	42,9
MAR	0,867	0,867	0,800	0,667	0,600	0,533	0,267	
Biofilme	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	

neg: negativo; pos: positivo; R: resistente; S: sensível; I: intermediário; nt: não testado.

Em março de 2018, o perfil de resistência antimicrobiana dos *Enterococcus* spp. isolados mostrou resistência à gentamicina em 50% (4/8) das amostras testadas (Tabela 3). O índice MAR variou de 0,000 a 0,167. Todas as cepas foram

consideradas sensíveis à vancomicina pelo E-test. A alta resistência aos aminoglicosídeos foi encontrada em 50% (4/8) dos isolados.

Tabela 3. Perfil de resistência antimicrobiana dos *Enterococcus* spp. isolados em 2018 nos diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	<i>Enterococcus</i> spp. Recepção	<i>Enterococcus</i> spp. MPA I	<i>Enterococcus</i> spp. Ambulatório I	<i>Enterococcus</i> spp. Ambulatório II	<i>Enterococcus</i> spp. Ambulatório III	<i>Enterococcus</i> spp. Almoxarifado Grandes	<i>Enterococcus</i> spp. Esterilização	<i>Enterococcus</i> spp. Esterilização Copa	Resistência %
Ampicilina	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Vancomicina	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Teicoplanina	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Gentamicina	S	R	R	R	R	S	S	S	50,0
Estreptomicina	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Clorofenicol	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
MAR	0.000	0.167	0.167	0.167	0.167	0.000	0.000	0.000	
Biofilme	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	

R: resistente; S: sensível; nt: não testado

Perfil dos *Staphylococcus* spp. isolados do HVU/UEM

Em março de 2017 foram detectadas 8 cepas estafilocócicas, sendo identificado fenotipicamente um *S. hyicus* e 7 estafilococos do grupo SIG (*Staphylococcus intermedius* group). O perfil de resistência antimicrobiana destes isolados (tabela 4) detectou alta resistência antimicrobiana com índice MAR variando de 0,578 a 0,842. Sete das oito cepas isoladas de MRS foram consideradas produtoras de biofilme.

Tabela 4. Perfil de resistência antimicrobiana dos *Staphylococcus* spp. Resistentes à Meticilina (MRS) isolados em 2017 de diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	<i>S. hyicus</i> Esterilização	<i>S. intermedius</i> Sala da residência	<i>S. intermedius</i> Recepção	<i>S. intermedius</i> MPA I	<i>S. intermedius</i> Internamento Médica	<i>S. pseudointermedius</i> Secretaria	<i>S. intermedius</i> Centro de Imagem	<i>S. intermedius</i> Almoxarifado Grandes	Resistência %
Penicilina	R	R	R	R	R	R	R	R	100,0
Oxacilina	R	R	R	R	R	R	R	R	100,0
Cefoxitina	R	R	R	R	R	R	R	R	100,0
Vancomicina*	-	-	S	S	S	S	S	-	0,0
Teicoplanina	R	I	I	I	I	I	I	R	100,0
Linezolida	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Amicacina	I	S	S	S	S	S	S	S	12,5
Gentamicina	R	S	S	I	S	I	I	R	62,5
Eritromicina	R	R	R	R	S	I	R	R	87,5
Azitromicina	R	R	R	R	S	I	R	R	87,5
Clindamicina	R	I	S	I	R	I	R	R	87,5
Clorofenicol	S	S	S	R	S	S	S	R	25,0
Rifampicina	S	S	S	S	S	S	S	R	12,5
Nitrofurantoína	R	S	S	S	S	I	S	S	25,0
Doxiciclina	R	I	R	R	R	I	R	R	100,0
Tetraciclina	R	S	R	R	R	I	R	R	87,5
Sulfazotrin	R	R	R	R	R	S	S	R	75,0
Ciprofloxacina	R	R	R	R	R	S	I	R	87,5
Enrofloxacina	R	R	R	R	R	I	I	R	100,0
Levofloxacina	R	R	R	I	I	S	S	R	75,0
MIC Oxacilina	≤2	-	128	32	>1024	512	-	≤2	
MBC Oxacilina	2	-	248	64	>1024	1024	-	2	
MAR	0.842	0.631	0.631	0.789	0.578	0.631	0.631	0.842	
Biofilme	neg	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	

* CLSI (2008), excluído do índice MAR; R: resistente; S: sensível; I: intermediário; neg: negativo; pos: positivo

Em 2018, foram detectadas 12 cepas estafilocócicas, sendo identificado fenotipicamente sete *Staphylococcus* do grupo Intermedius (SIG), três *Staphylococcus* coagulase negativo (CoNS) e um *Staphylococcus* não foi possível ser identificado. O perfil de resistência antimicrobiana destes isolados (tabela 5) detectou alta resistência à eritromicina (72,72%) e a menor resistência foi encontrada à amicacina e a gentamicina (0,00%). O índice MAR variou de 0.000 a 0.625. Oito cepas (72,72%) foram consideradas produtoras de biofilme.

Tabela 5. Perfil de resistência antimicrobiana dos *Staphylococcus* spp. Resistentes à Meticilina (MRS) isolados em 2018 de diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	Esterilização - SIG	Secretaria - SIG	Recepção - SIG	MPA II - SIG	Interna, Médica - SIG	Centro de Imagem - SIG	Banheiros - SIG	Copa	Centro Cir. I - CoNS	Pato Clínica - CoNS	Residência - CoNS	Resistência %
Penicilina	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	72,73
Oxacilina	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S	R	45,45
Cefoxitina	R	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	54,54
Vancomicina*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0,00
Amicacina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0,00
Gentamicina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0,00
Eritromicina	R	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	72,72
Clindamicina	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	9,09
MIC Oxacilina	8	4	4	4	8	2	512	8	16	256	4	
MBC Oxacilina	16	64	256	16	64	4	512	16	16	128	4	
MIC Enroflox.	≤0,5	0,31	≤0,5	-	2	1	2,5	-	0,15	32	0,15	
MBC Enroflox.	8	40	≤0,5	-	64	16	32	-	2,5	128	5	
MPC Enroflox.	≤2	-	≤2	-	≤2	≤2	≤2	-	-	64	-	
MPC/MBC Enrofl.	≤2	-	≤2	-	8	16	≤2	-	-	256	-	
MIC Gentamic.	-	0,062	-	-	-	-	0,062	-	0,062	-	0,062	
MBC Gentamic.	-	4	-	-	-	-	2	-	4	-	0,125	
MAR	0,625	0,250	0,250	0,000	0,125	0,375	0,500	0,125	0,500	0,375	0,375	
Biofilme	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	neg	neg	pos	neg	

* CLSI (2008), excluído do índice MAR; R: resistente; S: sensível; neg: negativo; pos: positivo

Perfil das bactérias Gram-negativas isoladas do HVU/UEM

Em 2017, das 8 bactérias Gram-negativas encontradas, 5 foram identificadas como *Acinetobacter baumannii*, duas cepas foram identificadas como *Burkholderia pseudomallei* e *Burkholderia cepacia*, e uma cepa foi identificada como *Pseudomonas fluorescens*. O perfil de resistência antimicrobiana detectou alta resistência, com índice MAR entre os *Acinetobacter baumannii* variando de 0,625 a 0,937. *Burkholderia pseudomallei* apresentou índice de resistência MAR de 1,000 e a *Burkholderia cepacia* 0,750. *Pseudomonas fluorescens* apresentou a menor resistência de todas as Gram-negativas com índice MAR de 0,428 (Tabela 6).

Tabela 6. Perfil de resistência antimicrobiana das bactérias Gram-negativas produtoras de carbapenemase isoladas em 2017 de diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	<i>Acinetobacter baumannii</i> Int. Cirúrgica	<i>Acinetobacter baumannii</i> Ambulatório I	<i>Acinetobacter baumannii</i> Ambulatório I	<i>Acinetobacter baumannii</i> Int. Cirúrgica	<i>Acinetobacter baumannii</i> Recepção	<i>Burkholderia pseudomallei</i> Int. Médica	<i>Burkholderia cepacia</i> Int. Médica	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Salaresidência
<u>Ticlarcilina/Clavulanato</u>	S	S	I	S	S	R	R	I
<u>Piperacilina/Tazobactam</u>	R	I	R	R	I	-	-	R
<u>Ceftazidima</u>	I	R	I	I	S	R	S	I
<u>Cefotaxima</u>	R	R	R	R	R	-	-	-
<u>Ceftriaxona</u>	R	R	R	R	R	-	-	-
<u>Cefepime</u>	R	R	R	R	R	-	-	S
<u>Meropenem</u>	R	R	R	R	R	R	I	R
<u>Imipenem</u>	R	R	R	R	R	-	-	S
<u>Aztreonam</u>	-	-	-	-	-	-	-	R
<u>Polimixina</u>	-	-	-	-	-	-	-	S
<u>Amicacina</u>	R	R	R	R	R	-	-	S
<u>Gentamicina</u>	R	R	R	R	R	-	-	S
<u>Tobramicina</u>	R	R	R	R	R	-	-	S
<u>Tetraciclina</u>	R	R	R	R	R	-	-	-
<u>Doxiciclina</u>	S	S	I	I	S	-	-	-
<u>Sulfazotrin</u>	S	S	S	S	S	-	-	-
<u>Norfloxacina</u>	-	-	-	-	-	-	-	S
<u>Ciprofloxacina</u>	S	S	R	I	S	-	-	S
<u>Levofloxacina</u>	S	S	R	R	S	R	I	R
MAR	0,687	0,687	0,937	0,875	0,625	1,000	0,750	0,428
Biofilme	neg	neg	neg	neg	neg	pos	neg	neg

- Antimicrobianos não testados; neg: negativo; pos: positivo; R: resistente; S: sensível; I: intermediário.

Os resultados do teste de sinergismo em disco para a detecção do tipo de carbapenemase, mostraram que 7 cepas foram produtoras de metalo-beta-lactamase pelo aumento do halo de inibição de crescimento quando associado o carbapenêmico com EDTA, já a *Burkholderia pseudomallei* foi considerada mutante deficiente de porina ou produtora de OXA-48, pela ausência de inibição do halo de crescimento com os três compostos testados. A pesquisa de ESBL realizada, apesar de suplantada pelo teste de Hodges modificado, reforça a alta resistência aos beta-lactâmicos das cepas pesquisadas. Todas as cepas mostraram MIC >32 µg/mL para meropenem pelo E-test.

Das 8 bactérias Gram-negativas isoladas, apenas a *Burkholderia pseudomallei* foi considerada produtora de biofilme.

Em março de 2018, das 14 bactérias Gram-negativas encontradas, todas foram identificadas como produtoras de ESBL pela associação em disco e das 8 testadas pela MIC/MBC para ceftriaxona, todas foram resistentes. Das 8 testadas pela MIC/MBC para meropenem, 3 foram consideradas resistentes à carbapenêmicos.

6. DISCUSSÃO

Dos enterococos isolados 46,67% (7/15) foram classificados como MDR, indicando sua capacidade de adquirir, conservar e disseminar genes de resistência com facilidade, além da sua resistência intrínseca a diversas drogas (OGUTTU; QEKWANA; ODOI, 2021; WERNER et al., 2013). Assim, deve ser destacado a possibilidade de transmissão de cepas resistentes de enterococos entre humanos e animais, por meio do contato com objetos e superfícies dentro do hospital, uma vez que podem persistir por longos períodos no ambiente hospitalar (GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019; PORWANCHER et al., 1997). Por serem considerados organismos fonte de genes de resistência (AARESTRUP et al., 2000; COBURN et al., 2007; OGUTTU; QEKWANA; ODOI, 2021), outra preocupação é a possibilidade de transferência horizontal de genes de resistência para outras bactérias, como *Staphylococcus aureus* (DE NIEDERHÄUSERN et al., 2011).

A resistência fenotípica apresentada pelos *Enterococcus* spp. deste estudo aos aminoglicosídeos (gentamicina e estreptomicina) pode ser explicado devido a sua resistência intrínseca. Quando os aminoglicosídeos são usados em monoterapia para tratamento de infecções enterocócicas é necessário concentrações muito altas desse medicamento para que atinja seu local de ação (BADDOUR et al., 2015), pois ocorre diminuição de sua captação levando a baixa capacidade de penetração na célula bacteriana. Com isso, é observado efeito sinérgico com a associação do aminoglicosídeo (gentamicina ou estreptomicina) com outras drogas que possuem ação na parede celular, como os beta-lactâmicos e glicopeptídeos, que permitem que o aminoglicosídeo alcance seu local de ação devido a alteração na estrutura da parede celular bacteriana (HODGES et al., 1992; MILLER; MURRAY; ARIAS, 2008; SAPICO et al., 1989). A terapia associativa entre essas drogas já se mostrou eficaz, levando a melhora das taxas de cura clínica e menores taxas de recidivas (MANDELL; KAYE, 1970; WEINSTEIN; MOELLERING, 1973). Porém, o efeito sinérgico não é mais observado quando ocorre a aquisição de altos níveis de resistência a aminoglicosídeos (HLAR - High-level Resistance to Aminoglycosides), resistência devido a aquisição de genes que codificam enzimas específicas que promovem modificações nos aminoglicosídeos (MILLER; MURRAY; ARIAS, 2008).

A resistência fenotípica dos *Enterococcus* spp. para os fármacos beta-lactâmicos, como a penicilina e ampicilina, pode ocorrer devido a mutações nos genes *pbp5*, que codificam proteínas de ligação de penicilinas (PBPs) alteradas, levando a diminuição na afinidade por essas drogas (MILLER; MURRAY; ARIAS, 2008; MOELLERING, 1991), ou devido a produção de enzimas beta-lactamases. Assim, mesmo em concentrações terapêuticas do antibiótico, os enterococos são capazes de realizar a síntese de peptidoglicanos para a composição da parede celular bacteriana (MURRAY, 1990; ZHANG et al., 2012).

Assim como foi observado neste estudo um alto nível de estafilococos resistentes a múltiplas drogas (MDR) (45%- 9/20), um outro estudo abrangendo amostras de humanos e ambiente hospitalar veterinário, também encontrou cepas MRSA e MRSP altamente resistentes. Neste mesmo trabalho foi relatado a presença dessas bactérias em locais de alta concentração e movimentação de funcionários, tutores e cães como na sala de espera do hospital e também a transmissão de bactérias dentro do hospital veterinário (FEBLER et al., 2018). Resultado similar foi indicado no presente estudo, em que foram isolados maior número de cepas nos locais Sala dos residentes, Copa, Banheiros e Recepção, devido ao alto fluxo de médicos veterinários, estudantes e tutores nesses ambientes.

Neste estudo, para as cepas de *Staphylococcus* spp. isolados, todas foram sensíveis à vancomicina no teste de sensibilidade aos antimicrobianos, porém todas foram resistentes a teicoplanina (no ano de 2017), ambas pertencentes a classe dos glicopeptídeos, que são drogas utilizadas no tratamento de infecções por MRSA. Também se mostraram sensíveis a linezolida (oxazolidinonas), que pode ser utilizada como uma alternativa no tratamento.

Em relação às bactérias Gram-negativas isoladas em 2017, 87,5% (7/8) das bactérias foram consideradas produtoras de carbapenemases, pela produção de metalo-beta-lactamase no teste de sinergismo em disco, e em 2018 todas as Gram-negativas isoladas foram produtoras de ESBL e três resistentes aos carbapenêmicos. A alta frequência de 23,33% (n=14) de ESBLs encontrada demonstra a importância de pesquisar fenotipicamente a presença de ESBLs na rotina laboratorial, inclusive em espécies não-*E. coli* e não-*Klebsiella* sp. (LAGO; FUENTEFRIA; FUENTEFRIA, 2010). Quando essas bactérias são encontradas, o controle ambiental deve ser

aumentado, com higiene e desinfecção das instalações e equipamentos e tentativas de reduzir a pressão seletiva pelo uso consciente de antimicrobianos (FERNANDO; GRAY; GOTTLIEB, 2017). Estudos em humanos sugerem que o transporte dessas bactérias de um paciente para outro, pelas mãos, é um meio importante de disseminação de bactérias resistentes (PATERSON; BONOMO, 2005). As medidas de controle de infecção hospitalar devem incluir a descoberta da fonte de infecção ambiental, pois as bactérias produtoras de carbapenemases e ESBL podem formar biofilmes e ter sua sobrevivência aumentada em ambientes hospitalares bem como equipamento e instrumentos médicos, tornando o ambiente reservatório de microrganismos (ABREU et al., 2013).

A presença dessas enzimas contribuiu para diminuição da eficácia terapêutica, sendo um problema de saúde pública (LIVERMORE, 2009), pois os humanos e animais portadores podem ser responsáveis pela transmissão de infecção nosocomial (VALVERDE et al., 2004). Por isso, funcionários e médicos veterinários devem ser incentivados a adotar procedimentos de higiene das mãos, além da prática do monitoramento e isolamento de pacientes infectados (PATERSON; BONOMO, 2005).

Das bactérias testadas fenotipicamente para produção de biofilme, 67,65% (23/34) foram positivas no teste de CRA. A capacidade de formar biofilmes e assim persistir no ambiente reforçam a necessidade da tomada de medidas de controle de infecção hospitalar, com procedimentos adequados de higiene e desinfecção, além de investimento na formação de pessoal de limpeza.

Contaminação ambiental do HVU/UEM

Neste estudo foi identificado alta contaminação ambiental do hospital veterinário, onde foi isolado pelo menos um dos microrganismos de interesse em 73,33% e 82,61% dos ambientes pesquisados para o ano de 2017 e 2018, respectivamente.

Nas coletas realizadas, sete cepas (11,67%) foram isoladas no ambiente do Internamento da Médica, seis cepas (10,00%) na Sala dos residentes, cinco cepas (8,33%) na Recepção, Copa e Banheiros, todos estes sendo ambientes com alto fluxo de funcionários, médicos veterinários e até de tutores e seus cães. Estes dados

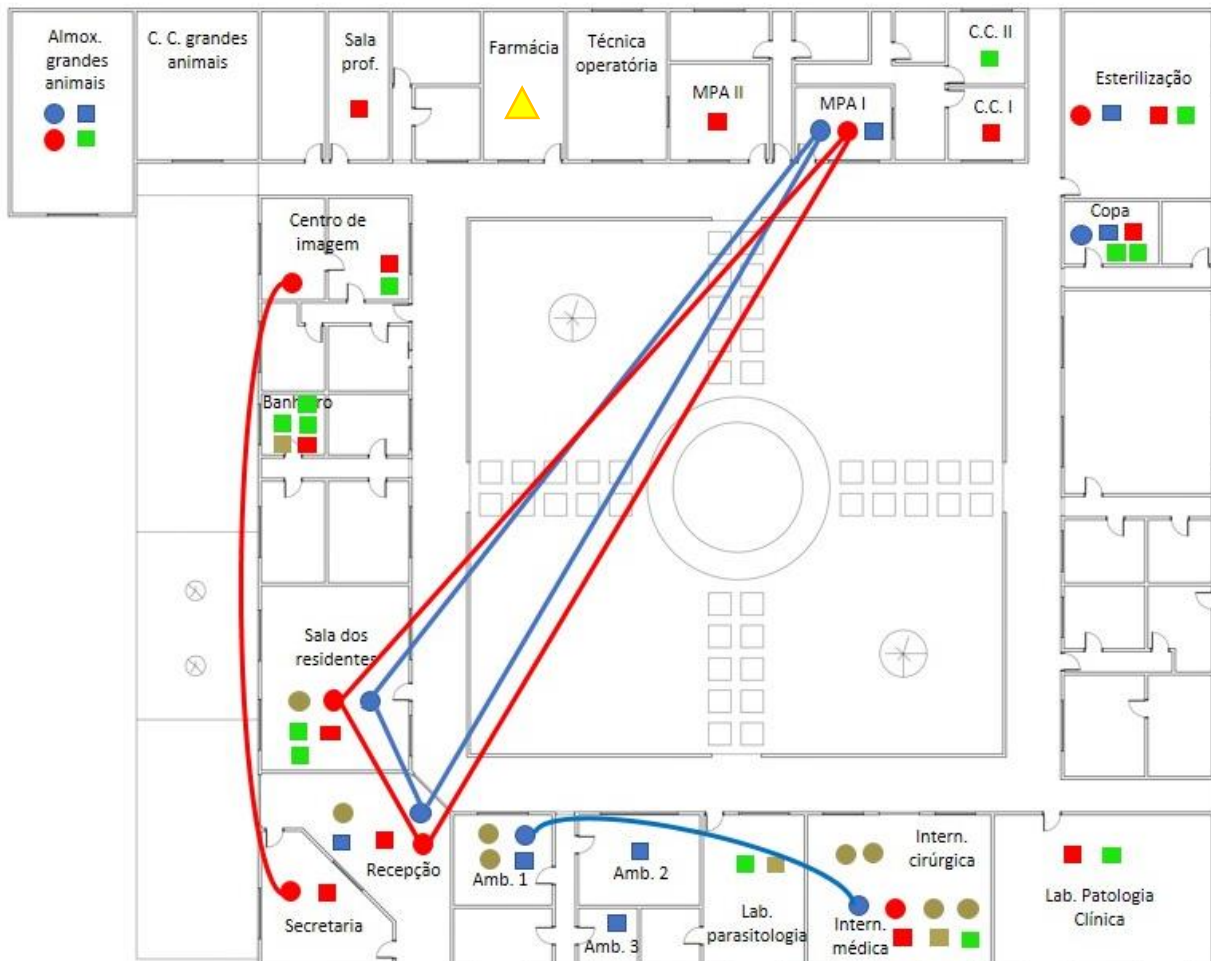
indicam a grande possibilidade de transmissão dessas cepas para outros locais, pessoas e animais.

Deve-se notar a persistência de contaminação de alguns ambientes amostrados nos anos deste estudo, principalmente para *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp, em que ambos os gêneros se mostraram presentes no ano de 2017 e novamente em 2018 (Tabela 1), como observado para *Enterococcus* spp. no Almoarifado de Grandes, Sala de MPA 1, Ambulatório 1, Recepção e Copa. Para *Staphylococcus* spp. isso foi observado na Sala de Esterilização, Internamento da Médica, Centro de Imagem, Recepção, Secretaria e Sala dos Residentes. Devido à alta quantidade de cepas isoladas em alguns desses ambientes e por serem ambientes de alto fluxo de pessoas, as medidas de controle de infecção hospitalar nesses ambientes devem ser mais efetivas

Em um outro estudo realizado em um hospital veterinário avaliando a contaminação ambiental apenas por MRSA, encontraram prevalência de 10% dos locais amostrados (LOEFFLER et al., 2005). Estes resultados associados a capacidade dos organismos de se transferir do ambiente para seres humanos e animais por meio do contato (MANIAN, 2003), destacam o ambiente hospitalar como fonte de infecção de microrganismos resistentes para os seres humanos que ali trabalham (HELLER et al., 2009), bem como para os animais hospitalizados, podendo estes atuar como reservatórios de bactérias resistentes para a população humana (LIVE; NICHOLS, 1961). Diminuir a contaminação ambiental pode ajudar a controlar a propagação de bactérias resistentes em hospitais e conseqüentemente na comunidade, visto que reduziria a chance de um paciente internado adquirir uma cepa resistente (DANCER, 2008).

Dos ambientes amostrados, apenas a farmácia se manteve ausente para as bactérias de interesse deste estudo em ambas as coletas (Layout 1).

Layout 1. Representação esquemática do HVU/UEM e a identificação dos locais onde foram encontradas bactérias de importância em saúde pública.



Círculos representam as bactérias isoladas em 2017; quadrados representam as bactérias isoladas em 2018. Em azul estão representados os *Enterococcus* spp., em vermelho os *Staphylococcus* spp., verde as ESBLs e em marrom as bactérias produtoras de carbapenemases. As linhas evidenciam-se os locais onde foram encontrados cepas MRS e *Enterococcus* spp. com o mesmo fenótipo de resistência no ano de 2017; triângulo amarelo faz referência ao ambiente (farmácia) onde não foi isolado nenhuma bactéria pesquisada neste trabalho, tanto para o ano de 2017 como para 2018.

Em outros trabalhos realizados, diversos locais como maçanetas, teclados de computador, canetas, camas de pacientes, instrumentos médicos, como estetoscópios, foram relatados como mais prováveis de abrigar MRS, indicando ampla contaminação do ambiente hospitalar por essa bactéria (DANCER, 2008; HOSOKAWA; KAMIYA, 2002), além da sua facilidade de disseminação (DANCER, 2008).

Taggar et al. (2020) relatam que os animais de companhia podem ser infectados com bactérias produtoras de carbapenemases por meio do contato direto com hospedeiros colonizados e ambiente contaminado, além da possibilidade de se tornar reservatórios, implicando no risco de transmissão desses microrganismos para os humanos (LERNER et al., 2013). O ambiente contaminado por esses agente pode atuar como vetor na sua disseminação, tendo como controle a adoção de métodos de limpeza e desinfecção de superfícies e materiais usados por portadores (LERNER et al., 2013; TAGGAR et al., 2020).

Este estudo demonstrou que cepas de MRS, *Enterococcus* spp., ESBLs e bactérias produtoras de carbapenemases estão presentes no ambiente deste hospital veterinário, evidenciando a significativa capacidade de o mesmo ambiente ser fonte de infecção para diversos microrganismos. Estes resultados destacam a importância de melhorar a conduta dos veterinários em relação as prescrições de antimicrobianos, assim como a necessidade de instalação de um programa de controle de infecção hospitalar, com o estabelecimento de um procedimento rigoroso de limpeza e desinfecção e educação da equipe do hospital, para prevenir a disseminação de bactérias resistentes entre os pacientes e funcionários (ROUDAUD; ALLANO, 2018). Além disso, a lavagem das mãos, junto com a limpeza do meio ambiente foi associada a uma redução da incidência de doenças adquiridas em hospitais humanos (PITTET et al., 2001). Levando-se em consideração que as cepas de microrganismos resistentes podem persistir por longos períodos em ambientes veterinários, é importante para prevenção de infecções o monitoramento periódico desses locais, avaliando questões como a rota de transmissão, epidemiologia e as medidas de higiene (SATO et al., 2018).

Outra medida para reduzir a transmissão de organismos multirresistentes é a detecção precoce das cepas multirresistentes e a redução da circulação de pessoas e animais dentro do ambiente hospitalar veterinário (FEBLER et al., 2018), visto que muitas bactérias de interesse foram encontrados em áreas de grande circulação de pessoas e animais como o ambiente da recepção, sala de residência, sala de MPA e internamento, associado também ao aumento de medidas de limpeza e desinfecção nessas áreas de alta concentração de pessoas e animais.

7. CONCLUSÃO

Muitas bactérias fazem parte da microbiota de humanos e animais, como os enterococos que integram a microbiota intestinal e os estafilococos, que colonizam pele e mucosas. Porém, hoje, esses microrganismos têm sua importância relacionada a infecções nosocomiais pela capacidade de se tornarem multirresistentes. O surgimento de microrganismos resistentes às diversas classes de antimicrobianos tem aumentado nos últimos anos, tornando-se uma ameaça à saúde pública. São necessárias intervenções eficazes no ambiente hospitalar, que devem se concentrar em medidas de higiene, como boas práticas de antisepsia das mãos dos funcionários e visitantes, bem como em protocolos sistemáticos de limpeza e desinfecção englobando todos os locais do ambiente hospitalar. Além disso, os médicos veterinários devem realizar o controle do uso de antimicrobianos, escolhendo os antimicrobianos que serão utilizados de acordo com os testes de sensibilidade aos antimicrobianos, e também ser incentivados a lavar as mãos antes e depois do contato com pacientes. São medidas necessárias para minimizar o problema da resistência antimicrobiana e reduzir o transporte nosocomial de bactéria multirresistentes, com foco no manejo correto dos antimicrobianos e cumprimento de medidas de higiene para prevenção de infecções hospitalares

8. REFERÊNCIAS

AARESTRUP, F. M; AGERSOA, Y.; GERNER-SMIDTC, P.; MADSENB , M.; JENSEN, L. B. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community , broilers , and pigs in Denmark. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 37, p. 127–137, 2000.

ABREU, A. C; TAVARES, R. R.; BORGES, A.; MAGALHÃO, F.; SIMÕES, M. Current and emergent strategies for disinfection of hospital environments. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, p. 2718–2732, 2013.

AIRES-DE-SOUSA, M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 23, n. 6, p. 373–380, 2017.

ALI, S. A.; HASAN, K. A.; BIN ASIF, H.; ABBASI, A. Environmental enterococci: I. Prevalence of virulence, antibiotic resistance and species distribution in poultry and its related environment in Karachi, Pakistan. *Letters in Applied Microbiology*, v. 58, n. 5, p. 423–432, 2014.

ANVISA. 2013. NOTA TÉCNICA Nº 01/2013 - Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes. Brasília, 17 de abril de 2013.

AMINOV, R. I. The role of antibiotics and antibiotic resistance. *Environmental Microbiology*, v. 11, p. 2970–2988, 2009.

BADDOUR, L.; WILSON, W. R.; BAYER, A. S.; FOWLER, V. G.; TLEYJEH, I. M.; RYBAK, M. J.; BARSIC, B.; LOCKHART, P. B.; GEWITZ, M. H.; LEVISON, M. E.; BALEN, J. V.; KELLEY, C.; NAVA-HOET, R. C.; BATEMAN, S.; HILLIER, A.; DYCE, J.; WITTUM, T.; HOET, A. E. Presence, Distribution, and Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Small Animal Teaching Hospital : A Year-Long Active Surveillance Targeting Dogs and Their Environment. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, v. 13, n. 5, 2013.

BARTASH, R.; NORI, P. Beta-lactam combination therapy for treatment of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* species bacteremias: A summary and appraisal of the evidence. *International Journal of Infectious Diseases*, 2017.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic Susceptibility Testing By a Standardized Single Disk Method. *The American Journal of Clinical Pathology*, v. 36, n. 3, p. 493–496, 1996.

BEGANOVIC, M.; LUTHER, M. K.; RICE, L. B.; ARIAS, C. A.; RYBAK, M. J.; LAPLANTE, K. L. A review of combination antimicrobial therapy for enterococcus faecalis bloodstream infections and infective endocarditis. *Clinical Infectious Diseases*, v. 67, n. 2, p. 303–309, 2018.

BENEDICT, K. M.; MORLEY, P. S.; VAN METRE, D. C. Characteristics of biosecurity and infection control programs at veterinary teaching hospitals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 233, n. 5, p. 767–773, 2008.
BIEROWIEC, K.; KATARZYNA, P.; RYPU, K. Is the Colonisation of *Staphylococcus aureus* in Pets Associated with Their Close Contact with Owners? *Plos One*, p. 1–14, 2016.

BLAKE, A. B.; SUCHODOLSKI, J. S. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. *Animal Frontiers*, v. 6, n. 3, p. 37–42, 2016.

BRAIEK, O. B.; SMAOUI, S. Enterococci : Between Emerging Pathogens and Potential Probiotics. *BioMed Research International*, v. 2019, 2019.

BREATHNACH, A. S. Nosocomial infections and infection control. *Medicine (United Kingdom)*, v. 41, n. 11, p. 649–653, 2013.

BURGESS, B. A.; MORLEY, P. S. Risk factors for veterinary hospital environmental contamination with *Salmonella enterica*. *Epidemiology and Infection*, v. 146, n. 10, 1282-1292, 2018.

BYAPPANAHALLI, M. N.; NEVERS, M. B.; KORAJKIC, A.; STALEY, Z. R.; HARWOODC, V. J. Enterococci in the Environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 76, n. 4, p. 685–706, 2012.

CARVALHO, S.; SHEWMAKER, P. L.; STEIGERWALT, A. G.; MOREY, R. E.; SAMPSON, A. J.; JOYCE, K.; BARRETT, T. J.; TEIXEIRA, L. M.; FACKLAM, R. R. *Enterococcus caccae* sp. nov., isolated from human stools Printed in Great Britain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, n. 56, p. 1505–1508, 2006.

CHIANG, H.; PERENCEVICH, E. N.; NAIR, R.; NELSON, R. E.; SAMORE, M.; KHADER, K.; CHORAZY, M. L.; HERWALDT, L. A.; BLEVINS, A.; WARD, M. A.; SCHWEIZER, M. L. Incidence and Outcomes Associated With Infections Caused by Vancomycin-Resistant Enterococci in the United States : Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, p. 1-13, 2016.

CHO, S.; JACKSON, C. R.; FRYE, J. G. The prevalence and antimicrobial resistance phenotypes of *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Enterococcus* sp. in surface water. *Letters in Applied Microbiology*, p. 3–25, 2020.

CLSI 2008. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals: approved standard. 3rd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 2008.

CLSI. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute 2013.

CLSI. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute 2015.

COBURN, P. S.; BAGHDAYAN, A. S.; DOLAN, G. T.; SHANKAR, N. Horizontal transfer of virulence genes encoded on the *Enterococcus faecalis* pathogenicity island. *Molecular Microbiology*, v. 63, n. 2, p. 530–544, 2007.

COLLIGNON, P. J.; MCEWEN, S. A.. One Health — Its Importance in Helping to Better Control Antimicrobial Resistance. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, v. 4, n. 2, 2019.

COLLIGNON, P. Antibiotic resistance : are we all doomed ? *Internal Medicine Journal*, v. 45, 2015.

COQUE, T.M.; NOVAIS, A.; CARATTOLI, A.; POIREL, L.; PITOUT, J.; PEIXE, L.; BAQUERO, F.; CANTÓN, R.; NORDMANN, P. Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15. *Emerging infectious diseases*, v.14, p.195–200, 2008.

DALEY, P.; BAJGAI, J.; PENNEY, C.; WILLIAMS, K.; WHITNEY, H.; GOLDING, G. R.; WEESE, S. A cross sectional study of animal and human colonization with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in an Aboriginal community. *BMC Public Health*, v. 16, n. 1, p. 1–7, 2016.

DANCER, S. J. Importance of the environment in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition : the case for hospital. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 8, n. 2, p. 101–113, 2008.

DE NIEDERHÄUSERN, S.; BONDI, M.; MESSI, P.; ISEPPI, R.; SABIA, C.; MANICARDI, G.; ANACARSO, I. Vancomycin-resistance transferability from VanA enterococci to *Staphylococcus aureus*. *Current Microbiology*, v. 62, n. 5, p. 1363–1367, 2011.

DENNESEN, P. J. W.; BONTEN, M. J. M.; WEINSTEIN, R. A. Multiresistant bacteria as a hospital epidemic problem. *Annals of Medicine*, v. 30, n. 2, p. 176–185, 1998.

DOMIG, K. J.; MAYER, H. K.; KNEIFEL, W. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. - 2. Pheno- and genotypic criteria. *International Journal of Food Microbiology*, v. 88, n. 2–3, p. 165–188, 2003.

ECONOMOU, V.; SAKKAS, H.; DELIS, G.; GOUSIA, P. Antibiotic Resistance in *Enterococcus* spp . Friend or Foe ? *Food Borne Pathogens and Antibiotic Resistance*, p. 365–395, 2017.

FEBLER, A. T.; SCHUENEMANN, R.; KADLEC, K.; HENSEL, V.; BROMBACH, J.; MURUGAIYAN, J.; OECHTERING, G.; BURGNER, I.; SCHWARZ, S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) among employees and in the environment of a small animal hospital. *Veterinary Microbiology*, v. 221, p. 153–158, 2018.

FERNANDO, S. A.; GRAY, T. J.; GOTTLIEB, T. Healthcare-acquired infections : prevention strategies Carbapenemase-producing. *Clinical Perspectives*, v. 47, p. 1341–1351, 2017.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology , epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology Society*, p. 1749–1757, 2009.

FOULQUIÉ MORENO, M.R.; SARANTINOPOULOS, P.; TSAKALIDOU, E.; DE VUYST, L. The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, v. 106, p. 1–24, 2006.

FREEMAN, D. J.; FALKINER, F. R.; KEANE, C. T. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, v. 42, p. 872–874, 1989.

FRIEDRICH, A. W. Control of hospital acquired infections and antimicrobial resistance in Europe : the way to go. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, p. 25–30, 2019.

GARCÍA-SOLACHE, M.; RICE, L. B. The enterococcus: A model of adaptability to its environment. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 32, n. 2, p. 1–28, 2019.

GIRAFFA; GIORGIO. Enterococci from foods. *Microbiology Reviews*, v. 26, p. 163–171, 2002.

GOODACRE, R.; HARVEY, R.; HOWELL, S. A.; GREENHAM, L. W.; NOBLE, W. C. An epidemiological study of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from dogs, their owners and veterinary surgeons. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v. 44, n. 1, p. 49–64, 1997.

GUARDABASSI, L.; LOEBER, M. E.; JACOBSON, A. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Veterinary Microbiology*, v. 98, n. 1, p. 23–27, 2004.

GUERRERO-RAMOS, E.; POETA, P.; CORDERO, J.; MOLINA-GONZ, D.; IGREJAS, G.; ALONSO-CALLEJA, C.; CAPITA, R. Antimicrobial resistance and virulence genes in enterococci from wild game meat in Spain. *Food Microbiology*, v. 53, p. 156–164, 2016.

HANSELMAN, B. A.; KRUTH, S. A.; ROUSSEAU, J.; LOW, D. E.; WILLEY, B. M.; MCGEER, A.; WEESE, J. S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in veterinary personnel. *Emerging Infectious Diseases*, v. 12, n. 12, p. 1933–1938, 2006.

HARBARTH, S; SAX, H; GASTMEIER, P. The preventable proportion of nosocomial infections : an overview of published reports. *Journal of Hospital Infection*, v. 6701, p. 258–266, 2003.

HELLER, J. et al. Prevalence and distribution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* within the environment and staff of a university veterinary clinic. *Journal of Small Animal Practice*, v. 50, n. 4, p. 168–173, 2009.

HINDLER, J. F.; STELLING, J. Analysis and Presentation of Cumulative Antibigrams : A New Consensus Guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. *Medical Microbiology*, v. 44, p. 867–873, 2007.

HODGES, T. L.; ZIGHELBOIM-DAUM, S.; ELIOPOULOS, G. M.; WENNERSTEN, C.; MOELLERING, R. C. Antimicrobial susceptibility changes in *Enterococcus faecalis* following various penicillin exposure regimens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 36, n. 1, p. 121–125, 1992.

HOLMES, A. H.; MOORE, L. S.; SUNDSFJORD, A.; STEINBAKK, M.; REGMI, S.; KARKEY, A.; GUERIN, P. J.; PIDDOCK, L. J. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, v. 9, 2016.

HUGAS, M.; GARRIGA, M.; AYMERICH, M. T. Functionalty of enterococci in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, v. 88, p. 223–233, 2003.

HUIJBERS, P.; BLAAK, H.; DE JONG, M. C. M.; GRAAT, E. A. M.; VANDENBROUCKE-GRAULS, C. M. J. E.; HUSMAN, A. M. R. Role of the environment in the transmission of antimicrobial resistance to humans : A review. *Environmental Science & Technology*, v. 49, n. 20, 2015.

HUR, B. A.; HARDEFELDT, L.; VERSPOORID, K. M.; BALDWIN, T.; GILKERSON, J. R. Describing the antimicrobial usage patterns of companion animal veterinary practices; Free text analysis of more than 4.4 million consultation records. *PLoS ONE*, v. 15, n. 3, p. 1–15, 2020.

ISHIHARA, K.; SHIMOKUBO, N.; SAKAGAMI, A.; UENO, H.; MURAMATSU, Y.; KADOSAWA, T.; YANAGISAWA, C.; HANAOKI, H.; NAKAJIMA, C.; SUZUKI, Y.; TAMURA, Y.. Occurrence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *staphylococcus pseudintermedius* in an academic veterinary hospital. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 76, n. 15, p. 5165–5174, 2010.

KIM, D. H.; CHUNG, Y. S.; PARK, Y. K.; YANG, S.-J.; LIM, S. K.; PARK, Y. H.; PARK, K. T. Antimicrobial resistance and virulence profiles of *Enterococcus* spp. isolated from horses in Korea. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 48, p. 6–13, 2016.

KLUYTMANS, J.; VAN BELKUM, A.; VERBRUGH, H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 10, n. 3, p. 505–520, 1997.

KOPOTSA, K.; SEKYERE, J. O. Plasmid evolution in carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* : a review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, p. 1–31, 2019.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to Identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foodst. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 46, n. 1, p. 165–170, 1983.

LAGO, A.; FUENTEFRIA, S. R.; FUENTEFRIA, B. Enterobactérias produtoras de ESBL em Passo Fundo , Estado do Rio Grande do Sul , Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 43, n. 4, p. 430–434, 2010.

LARSON, E. A retrospective on infection control. Part 1: Nineteenth century--consumed by fire. *American Journal of Infection Control*, p. 236–241, 1997.

LEBRETON, François; SCHAİK, Willem Van; MANSON, Abigail. Emergence of Epidemic Multidrug-Resistant *Enterococcus faecium*. *American Society for Microbiology*, v. 4, n. 4, p. 1–10, 2013.

LEE, E-W.; HUDA, M. N.; KURODA, T.; MIZUSHIMA, T.; TSUCHIYA, T. EfrAB, an ABC Multidrug Efflux Pump in *S. pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 47, n. 12, p. 3733–3738, 2003.

LERNER, A.; ADLER, A.; MEITUS, I.; CARMELI, Y. Environmental Contamination by Carbapenem-Resistant *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 1, p. 177–181, 2013.

LEVINE, D. P. Vancomycin : A History. *Clinical Infectious Diseases*, v. 42, n. Suppl 1, p. 5–12, 2006.

LINDEN, P. K. Optimizing therapy for vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, v. 28, n. 6, p. 632–645, 2007.

LIU, S.; WANG, M.; ZHENG, L.; GUAN, W. Antimicrobial Resistance Profiles of Nosocomial Pathogens in Regional China : A Brief Report from Two Tertiary Hospitals in China. *Medical Science Monitor*, p. 8602–8607, 2018.

LIVE, I.; NICHOLS, A C. The Animal Hospital as a Source of Antibiotic- Resistant Staphylococci, *The Journal of Infectious Diseases*, v.108, n. 2, p. 195–204, 1961.

LIVERMORE, D. M. Has the era of untreatable infections arrived? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 64, n. SUPPL.1, p. 29–36, 2009.

LIVERMORE, D. M. B-Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 8, n. 4, p. 557–584, 1995.

LOEFFLER, A. BOAG, A. K.; SUNG, J.; LINDSAY, J. A.; GUARDABASSI, L.; DALSGAARD, A.; SMITH, H.; STEVENS, K. B.; LLOYD, D. H. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 56, n. 4, p. 692–697, 2005.

MANDELL, G. L.; KAYE, D. Enterococcal Endocarditis. *Arch Intern Med*, v. 125, p. 258–264, 1970.

MANIAN, F. A. Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 36, n. 2, p. 26–28, 2003.

MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial Resistance: A One Health Colloquium. *Microbiology Spectrum*, v. 6, n. 2, p. 1–26, 2018.

MESSER, J. W.; DUFOUR, A. P. A rapid, specific membrane filtration procedure for enumeration of enterococci in recreational water. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, n. 2, p. 678–680, 1998.

MILLER, W. R.; MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, v. 12, n. 10, p. 1221–1236, 2014.

MOELLERING, R. C. The enterococcus: A classic example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic options. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 28, n. 1, p. 1–12, 1991.

MOHAMED, J. A.; HUANG, D. B. Biofilm formation by enterococci. *Journal of Medical Microbiology*, v. 56, p. 1581–1588, 2007.

MORAES, P. M.; PERIN, L. M.; TODOROV, S. D.; SILVA, A.; FRANCO, B. D. G. M.; NERO, L. A. Bacteriocinogenic and virulence potential of *Enterococcus* isolates obtained from raw milk and cheese. *Journal of Applied Microbiology*, v. 113, n. 2, p. 318–328, 2012.

MORRIS, D. O.; BOSTON, R. C.; O'SHEA, K.; RANKIN, S. C. The prevalence of carriage of methicillin-resistant staphylococci by veterinary dermatology practice staff and their respective pets. *Veterinary Dermatology*, v. 21, n. 4, p. 400–407, 2010.

MULLER, T.; ULRICH, A.; OTT, E. M.; MULLER, M. Identification of plant-associated enterococci. *Journal of Applied Microbiology*, v. 91, n. 2, p. 268–278, 2001.

MURPHY, C. P.; WEESE, J. S.; MCEWEN, S. A. Evaluation of Specific Infection Control Practices Used by Companion Animal Veterinarians in Community Veterinary Practices in Southern Ontario. *Zoonoses and Public Health*, v. 57, p. 429–438, 2010.

MURRAY, B.E. VANCOMYCIN -RESISTANT ENTEROCOCCAL INFECTIONS. *The New England Journal of Medicine*, v. 9, n. 10, 2000.

MURRAY, Barbara E. The life and times of the enterococcus. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 3, n. 1, p. 46–65, 1990.

NASER, S. M.; VANCANNEYT, M.; DE GRAEF, E.; DEVRIESE, L. A.; SNAUWAERT, C.; LEFEBVRE, K.; HOSTE, B.; ŠVEC, P.; DECOSTERE, A.; HAESBROUCK, F.; SWINGS, J. *Enterococcus canintestini* sp. nov., from faecal samples of healthy dogs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 55, p. 2177–2182, 2005.

NGUYEN-VIET, H.; SUWIT, C.; ESTHER, C.; WINDA, S.; KHAMLOME, B.; TUM, S.; ADISASMITO, W. Reduction of antimicrobial use and resistance needs sectoral-collaborations with a One Health approach : perspectives from Asia. *International Journal of Public Health*, 2016.

NIEMI, R. M.; OLLINKANGAS, T.; PAULIN, L.; ŠVEC, P.; VANDAMME, P.; KARKMAN, A.; KOSINA, M.; LINDSTRÖM, K. *Enterococcus rivorum* sp. nov., from water of pristine brooks. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, p. 2169–2173, 2012.

NORDMANN, P.; GNIADKOWSKI, M.; GISKE, C. G.; POIREL, L.; WOODFORD, N.; MIRIAGOU, V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 18, n. 5, 2012.

NORDMANN, P.; NAAS, T.; POIREL, L. Global Spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases*, v. 17, n. 10, p. 1791–1798, 2011.

O'MAHONY, R.; ABBOTT, Y.; LEONARD, F. C.; MARKEY, B. K.; QUINN, P. J.; POLLOCK, P. J.; FANNING, S.; ROSSNEY, A. S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel in Ireland. *Veterinary Microbiology*, v. 109, n. 3–4, p. 285–296, 2005.

OGUTTU, J. W.; QEKWANA, D. N.; ODOI, A. Prevalence and Predictors of Antimicrobial Resistance Among *Enterococcus* spp. From Dogs Presented at a Veterinary Teaching Hospital, South Africa. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 7, n. January, 2021.

OIE, S.; HOSOKAWA, I.; KAMIYA, A. Contamination of room door handles by methicillin-sensitive/methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection*, v. 51, p. 140–143, 2002.

OLIVEIRA, D. M. P. FORDE, B. M.; KIDD, T. J.; HARRIS, P. N. A.; BEATSON, S. A.; PATERSON, D. L.; WALKER, J. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 33, n. 3, p. 1–49, 2020.

ORTIZ-DÍEZ, G.; LÓPEZ, R.; SÁNCHEZ-DÍAZ, A. M.; TURRIENTES, M.-C.; BAQUERO, M.-R.; LUQUE, R.; MAROTO, A.; FERNÁNDEZ, C.; AYLLÓN, T. Epidemiology of the colonization and acquisition of methicillin-resistant staphylococci and vancomycin-resistant enterococci in dogs hospitalized in a clinic veterinary hospital in Spain. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 72, 2020.

OSSIPRANDI, M. C.; BOTTARERELLI, E.; CATTABIANI, F.; BIANCHI, E. Susceptibility to vancomycin and other antibiotics of 165 *Enterococcus* strains isolated from dogs in Italy. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 31, n. 1, p. 1–9, 2008.

PAPP-WALLACE, K. M.; ENDIMIANI, A.; TARACILA, M. A.; BONOMO, R. A. Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 55, n. 11, p. 4943–4960, 2011.

PATERSON, D. L.; BONOMO, R. A. Extended spectrum beta lactamases: A critical update. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 18, n. 4, p. 657–686, 2005.

PETRIE, A.; WATSON, P. *Estatística em Ciência Animal e Veterinária*. 2ed. São Paulo: Editora Roca. 248, 2009

PITTET, D.; HUGONNET, S.; HARBARTH, S.; MOUROUGA, P.; SAUVAN, V.; TOUVENEAU, S.; PERNEGER, T. V. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. *Journal of Hospital Infection*, v. 9, n. 2, p. 84–90, 2001.

PORWANCHER, R.; SHETH, A.; REMPHREY, S.; TAYLOR, E.; HINKLE, C.; ZERVOS, M. Epidemiological Study of Hospital-Acquired Infection with Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* : Possible Transmission by an Electronic Ear-Probe Thermometer. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 18, n. 11, p. 5–8, 1997.

PRESTINACI, F.; PEZZOTTI, P.; PANTOSTI, A. Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, v. 109, n. 7, p. 309–318, 2015.

RATHNAYAKE, I. U.; HARGREAVES, M.; HUYGENS, F. Genotyping of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates by use of a set of eight single nucleotide polymorphisms. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 49, n. 1, p. 367–372, 2011.

ROUDAUD, M.; ALLANO, M. A retrospective study on methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. isolated from horses admitted to a Canadian veterinary teaching hospital between 2008 and 2018. *The Canadian Veterinary Journal*, n. 8, p. 1197–1202, 2020.

ROYDEN, A.; ORMANDY, E.; PINCHBECK, G.; PASCOE, B.; HITCHINGS, M. D.; SHEPPARD, S. K.; WILLIAMS, N. J. Prevalence of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in veterinary hospital staff and students. *Veterinary Record Open*, v. 6, n. 1, 2019.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. 3ed. FEPMVZ Editora, Belo Horizonte. 221, 2010.

SANDORA, T. J.; GOLDMANN, D. A. Preventing Lethal Hospital Outbreaks of Antibiotic-Resistant Bacteria. *The New England Journal of Medicine*, v. 367, n. 23, p. 2168–2170, 2012.

SAPICO, F. L.; CANAWATI, H. N.; GINUNAS, V. J.; GILMORE, D. S.; MONTGOMERIE, J. Z.; TUDDENHAM, W. J.; FACKLAM, R. R. Enterococci highly resistant to penicillin and ampicillin: an emerging clinical problem? *Journal of clinical microbiology*, v. 27, n. 9, 2091–2095, 1989

SATO, T.; USUI, M.; MAETANI, S.; TAMURA, Y. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinary staff in small animal hospitals in Sapporo, Japan, between 2008 and 2016: A follow up study. *Journal of Infection and Chemotherapy*, v. 24, n. 7, p. 588–591, 2018.

SEKYERE, J. O. Molecular epidemiology and mechanisms of antibiotic resistance in *Enterococcus* spp ., *Staphylococcus* spp ., and *Streptococcus* spp . in Africa : a

systematic review from a One Health perspective. *Annals of the New York Academy of Sciences*, p. 1–30, 2019.

SHOEN, H. R. C.; ROSE, S. J.; RAMSEY, S. A.; MORAIS, H. Comparative Immunology , Microbiology and Infectious Diseases Analysis of Staphylococcus infections in a veterinary teaching hospital from 2012 to 2015. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 66, 2019.

SOUZA-JUNIOR, M. A; FERREIRA, E. S.; CONCEIÇÃO, G. C. Betalactamases de espectro ampliado (ESBL): Um importante mecanismo de resistência bacteriana e sua detecção no laboratório clínico. *Brasil. Revista NewsLab*, v. 63, p. 152-74, 2004.

STULL, J. W.; WEESE, J. S. Hospital-associated infections in small animal practice. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 45, n. 2, 2015.

SUKMAWINATA, E.; SATO, W.; UEMURA, R.; SUEYOSHI, M. Antimicrobial Resistant Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, and Other Enterococcus Species Isolated From Foal Feces in Japan. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 63, p. 51–54, 2018.

TAGGAR, G.; RHEMAN, M. A.; BOERLIN, P.; DIARRA, M. S. Molecular Epidemiology of Carbapenemases in Enterobacteriales from Humans , Animals , Food and the Environment. *Antibiotics*, v. 9, 2020.

THU, W. P.; SINWAT, N.; BITRUS, A. A.; ANGKITTITRAKUL, S.; PRATHAN, R.; CHUANCHUEN, R. Prevalence, antimicrobial resistance, virulence gene, and class 1 integrons of Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis from pigs, pork and humans in Thai-Laos border provinces. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, v. 18, p. 130–138, 2019.

UBUKATA, K.; NONOGUCHI, R.; MATSUHASHI, M.; KONNO, M. Expression and Inducibility in Staphylococcus aureus of the mecA Gene , Which Encodes a Methicillin-Resistant S . aureus-Specific Penicillin-Binding Protein. *Journal of Bacteriology*, v. 171, n. 5, p. 2882–2885, 1989.

VALVERDE, A.; COQUE, T. M.; SÁNCHEZ-MORENO, M. P.; ROLLÁN, A.; BAQUERO, F.; CANTÓN, R. Dramatic Increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae during nonoutbreak situations in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 10, p. 4769–4775, 2004.

VAN DEN BERGHE, E.; DE WINTER, T.; DE VUYST, L. Enterocin A production by Enterococcus faecium FAIR-E 406 is characterised by a temperature- and pH-dependent switch-off mechanism when growth is limited due to nutrient depletion. *International Journal of Food Microbiology*, v. 107, n. 2, p. 159–170, 2006.

VAN DEN BOGAARD, A. E.; STOBBERINGH, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics: Links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 14, n. 4, p. 327–335, 2000.

VAN DUIJKEREN, E.; KAMPHUIS, M.; VAN DER MIJE, I. C.; LAARHOVEN, L. M.; DUIM, B.; WAGENAAR, J. A.; HOUWERS, D. J. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics. *Veterinary Microbiology*, v. 150, n. 3–4, p. 338–343, 2011.

VERHOEVEN, P. O.; GAGNAIRE, J.; BOTELHO-NEVERS, E.; GRATTARD, F.; CARRICAJÓ, A.; LUCHT, F.; POZZETTO, B.; BERTHELOT, P. Detection and clinical relevance of *Staphylococcus aureus* nasal carriage: An update. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, v. 12, n. 1, p. 75–89, 2014.

WALTHER, B.; HERMES, J.; CUNY, C.; WIELER, L. H.; VINCZE, S.; ABOU, Y.; STAMM, I.; KOPP, P. A.; KOHN, B.; WITTE, W.; JANSEN, A.; CONRATHS, F. J.; SEMMLER, T.; ECKMANNS, T.; LU, A. Sharing More than Friendship — Nasal Colonization with Coagulase-Positive *Staphylococci* (CPS) and Co-Habitation Aspects of Dogs and Their Owners. *Plos One*, v. 7, n. 4, 2012.

WALTHER, B.; TEDIN, K.; LÜBKE-BECKER, A. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. *Veterinary Microbiology*, v. 200, p. 71–78, 2017.

WEESE, J. S.; DICK, H.; WILLEY, B. M.; MCGEER, A.; KREISWIRTH, B. N.; INNIS, B.; LOW, D. E. Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Veterinary Microbiology*, v. 115, n. 1–3, p. 148–155, 2006.

WEESE, J. S.; PAGE, S. W.; PRESCOTT, J. F. Antimicrobial stewardship in animals, In *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 5th ed., p 117–132, 2013.

WEINSTEIN, A. J.; MOELLERING, R. C. Penicillin and Gentamicin Therapy For Enterococcal Infections. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, v. 223, n. 9, p. 1030–1032, 1973.

WERNER, G.; COQUE, T. M.; FRANZ, C. M. A. P.; GROHMANN, E.; HEGSTAD, K.; JENSEN, L.; SCHAİK, W. V.; WEAVER, K. Antibiotic resistant enterococci — Tales of a drug resistance gene trafficker. *International Journal of Medical Microbiology*, v. 303, n. 6–7, p. 360–379, 2013.

WHO. World Health Organisation. Antimicrobial resistance. 2014.

WORTHING, K. A.; ABRAHAM, S.; PANG, S.; COOMBS, G. W.; SAPUTRA, S.; JORDAN, D.; WONG, H. S.; ABRAHAM, R. J.; TROTT, D. J.; NORRIS, J. M. Molecular Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Australian Animals and Veterinarians. *Microbial Drug Resistance*, v. 24, n. 2, p. 203–212, 2017.

ZHANG, X.; PAGANELLI, F. L.; BIERSCHENK, D.; KUIPERS, A.; BONTEN, M. J. M.; WILLEMS, R. J. L.; VAN SCHAİK, W. Genome-wide identification of ampicillin resistance determinants in enterococcus faecium. PLoS Genetics, v. 8, n. 6, 2012.

9. ARTIGO CIENTÍFICO

DETEÇÃO FENOTÍPICA DE BACTÉRIAS AMBIENTAIS MULTIRRESISTENTES DE IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA ISOLADAS DO HOSPITAL VETERINÁRIO UNIVERSITÁRIOS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

RESUMO

A resistência antimicrobiana tem como causa principal o uso indiscriminado de antimicrobianos no tratamento de infecções, na agricultura e no meio ambiente. O monitoramento constante de bactérias resistentes, seja isoladas de pacientes, funcionários ou ambiente, deve ser uma medida adotada para prevenção e controle de infecções hospitalares, visando melhoria de práticas rotineiras de higiene e desinfecção. O objetivo do estudo foi detectar bactérias ambientais multirresistentes de importância em saúde pública isoladas em ambientes do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Estadual de Maringá nos anos de 2017 e 2018, bem como relatar o perfil de resistência antimicrobiana dos grupos bacterianos isolados e mapear os ambientes do hospital veterinário que são possíveis fonte de bactérias multirresistentes. Foram realizados *swabs* de diferentes superfícies, compreendendo parede, móveis, maçanetas, chão e gaiolas e pias quando presente, em 15 ambientes no ano de 2017 e 23 ambientes no ano de 2018 para detecção de *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., bactérias produtoras de ESBL e carbapenemases. Após inoculação, os isolados foram submetidos a avaliação morfotintorial, identificação bioquímica e teste de suscetibilidade antimicrobiana. Foram isolados 60 cepas bacterianas nas duas coletas, sendo 23 cepas em 2017 e 37 cepas em 2018. Pelo menos um dos microrganismos de interesse estavam presentes em 73,33% e 82,61% dos ambientes pesquisados para o ano de 2017 e 2018, respectivamente. Os ambientes que apresentaram maior número de isolados são consideradas áreas de alto tráfego de pessoas e animais, como os ambientes Internamento da Médica, Recepção, Copa, Banheiros e Sala da Residência. Apenas o ambiente da Farmácia não apresentou nenhuma das bactérias interesse em ambos os anos pesquisados.

Palavras-chave: resistência antimicrobiana, contaminação ambiental, saúde pública

ABSTRACT

Antimicrobial resistance has as its main cause the indiscriminate use in the treatment of antimicrobials, in agriculture and in the environment. Constant monitoring of resistant bacteria. The objective of the study was to detect bacteria of public health importance isolated resistant in environmental environments of the Veterinary Hospital of the State University of Maringá 2017 and 2018, as well as related to the antimicrobial resistance profile of the bacterial groups isolated and to map the environments of the veterinary hospital that are possible sources of multidrug-resistant bacteria. Different environments were created environments, environments¹, walls, furniture, external environments and cages 15 in 2017 and 23 in 2018 detection of *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., producer of ESBL bacteria and carbapenemases. After inoculation, the isolates were selected for an evaluation of morphotintural identification, biochemistry and antimicrobial susceptibility test. 60 bacterial strains were isolated in the two collections, 23 strains in 2017 and 37 strains in 2018. At least one of the microorganisms of interest were present in 73.33% and 82.61% of the research environments for the year 2017 and 2018, respectively. The environments that present the largest number of identified areas are areas of high traffic of people and animals, such as the Physician's Hospitalization, Reception, Pantry, Bathrooms and Residence Room environments. Only the Pharmacy environment did not present any of the bacteria of interest in both years surveyed.

Keywords: antimicrobial resistance, environmental, public health

INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de antimicrobianos no tratamento de infecções, na agricultura e no meio ambiente apresentou como consequência a resistência antimicrobiana (AMR) (HOLMES et al., 2016; HUR et al., 2020; SANDORA; GOLDMANN, 2012), sendo um problema global e emergente (HOLMES et al., 2016; HUR et al., 2020; WHO, 2014). Estima-se que até 2050, dez milhões de pessoas por ano no mundo morrerão devido à resistência antimicrobiana (NGUYEN-VIET et al., 2016), e o ambiente hospitalar é considerado um dos fatores predisponentes para o desenvolvimento de infecções persistentes, junto com outros fatores relacionados ao paciente e intervenções médicas.

Muitos microrganismos podem ser patógenos causadores de infecções nosocomiais e são um importante problema de saúde pública, como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (BENEDICT; MORLEY; VAN METRE, 2008; FRIEDRICH, 2019), bactérias Gram-negativas produtoras de beta-lactamase de espectro estendido ou carbapenemases (BENEDICT; MORLEY; VAN METRE, 2008; BREATHNACH, 2013; FRIEDRICH, 2019), enterococos resistente à vancomicina (VRE) (FRIEDRICH, 2019). Nesse contexto, a identificação do ambiente hospitalar com capacidade de albergar microrganismos multirresistentes que podem ocasionar algum tipo de infecção, tem como objetivo direcionar ações preventivas antes mesmo da ocorrência de um surto (BURGESS; MORLEY, 2018). A identificação dos patógenos assim como o conhecimento de seu perfil de resistência é fundamental para definição de estratégias antimicrobianas clínicas apropriadas (LIU et al., 2018). Assim, o objetivo deste estudo foi detectar bactérias ambientais multirresistentes de importância em saúde pública isoladas do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Estadual de Maringá nos anos de 2017 e 2018.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras hospitalares: Foram realizadas coletas de amostras ambientais do Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) do Campus Regional de Umuarama (CAU) em março de 2017 e em março de 2018. As amostras foram coletadas em 15 diferentes ambientes hospitalares no ano de 2017 (Centro cirúrgico I, Esterilização, Farmácia, Almoxarifado de grandes, Internamento cirúrgica, Sala MPA I, Internamento médica, Ambulatório I, Ambulatório II, Centro de Imagem, Recepção, Secretaria, Sala dos residentes, Copa, Banheiros) e no ano de 2018 foram amostrados mais oito ambientes (Centro cirúrgico II, Téc. Operatória, Centro Cirúrgico de grandes, Sala MPA II, Ambulatório III, Patologia clínica, Parasitologia e Sala professor) além dos 15 ambientes já citados, totalizando 23 ambientes em 2018.

Nos ambientes avaliados em 2017 foram coletados 3 *swabs* iguais de diferentes superfícies, compreendendo parede, móveis, maçanetas, chão e gaiolas e pias (quando presentes). Cada *swab* foi inoculado em um dos seguintes meios de cultura: a) 2 mL de caldo enterococcosel (BBL®), para detecção de *Enterococcus* spp.; b) 2

mL de caldo Tryptone Soya Broth (TSB) (Oxoid®) a 10% de NaCl (Nuclear®), para detecção de *Staphylococcus* spp.; c) 10 mL de caldo TSB com 1µg/mL de meropenem (Laborclin®) (protocolo fornecido por Sfaciotte, R.A.P., ainda não publicado), para detecção de bactérias resistentes a carbapenêmicos. Nos ambientes avaliados no ano de 2018 foram coletados 4 *swabs*, inoculados em um dos seguintes meios de cultura: a) 2 mL de caldo enterococcosel (BBL®), para detecção de *Enterococcus* spp.; b) 2 mL de caldo Tryptone Soya Broth (TSB) (Oxoid®) a 10% de NaCl (Nuclear®) e 6µg/mL de oxacilina, para detecção de *Staphylococcus* spp. resistente à meticilina (MRS); c) 15 mL de caldo TSB com 2µg/mL de ceftriaxona (Laborclin®), para detecção de bactérias ESBL; d) 10 mL de caldo TSB com 1µg/mL de meropenem (Laborclin®) (protocolo fornecido por Sfaciotte, R.A.P., ainda não publicado), para detecção de bactérias resistentes a carbapenêmicos.

Detecção de *Enterococcus* spp: Os *swabs* embebidos em caldo enterococcosel foram incubados a $36^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas. As amostras cujo meio apresentou-se de cor preta foram semeadas pela técnica de esgotamento em ágar nutriente (Kasvi®) e incubadas a $36^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas. As colônias puras foram submetidas à técnica de disco-difusão com vancomicina e gentamicina, avaliação morfotintorial pela coloração de Gram e identificação bioquímica pelas provas de catalase, bile esculina e crescimento em caldo TSB com 6,5% de NaCl para identificação de *Enterococcus* spp. Os antimicrobianos testados por disco-difusão para todos os *Enterococcus* spp. isolados foram: beta-lactâmicos aminopenicilínicos (ampicilina 10µg); glicopeptídeos (vancomicina 30µg e teicoplanina 30µg); aminoglicosídeos (gentamicina 10µg e 120µg, estreptomicina 10µg e 300µg); e fenicol (cloranfenicol 30µg). Nos isolados de 2017 foram também testados os seguintes antimicrobianos: beta-lactâmico penicilínico (penicilina G 10U); macrolídeos (eritromicina 15µg); ansamicina (rifampicina 5µg); nitrofurantoína (nitrofurantoína 10mcg); fluoroquinolonas (2ª geração – enrofloxacina 5µg, e ciprofloxacina 5µg e 3ª geração – levofloxacina 5µg); tetraciclinas (tetraciclina 30µg e doxiciclina 30µg).

Detecção de *Staphylococcus* spp. resistente à meticilina (MRS): Os *swabs* embebidos em caldo TSB a 10% de NaCl, foram incubados a $36^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por até 24 horas. Em caso de turvação do meio, as amostras foram semeadas pela técnica de esgotamento em ágar nutriente e incubadas a $36^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas. As

colônias puras foram submetidas à técnica de disco-difusão utilizando discos de penicilina, oxacilina e cefoxitina para detecção de MRS, avaliação morfotintorial pela coloração de Gram, identificação bioquímica com as provas de catalase, oxidase, coagulase, urease, fermentação de glicose, sacarose e manitol, resistência à polimixina B (300µg) e produção de acetoina pela prova de Vogues-Proskrauer para a identificação das espécies de estafilococos. Os antimicrobianos testados por disco-difusão para todos os *Staphylococcus* spp. foram: beta-lactâmico penicilínico (penicilina G 10U); beta-lactâmico penicilínico semi-sintético (oxacilina 1µg); cefamicínico (cefoxitina 30mcg); glicopeptídeo (vancomicina 30µg); aminoglicosídeos (gentamicina 10µg e amicacina 30µg); macrolídeos (eritromicina 15µg); lincosamina (clindamicina 2µg). Nos isolados de 2017 também foram testados: glicopeptídeo (teicoplanina 30µg); oxazolidinona (linezolid 30µg); macrolídeos (azitromicina 15µg); ansamicina (rifampicina 5µg); fenicol (cloranfenicol 30µg); nitrofurantoína (nitrofurantoína 10mcg); fluoroquinolonas (2ª geração – enrofloxacina 5µg e ciprofloxacina 5µg e 3ª geração – levofloxacina 5µg); tetraciclinas (tetraciclina 30µg e doxiciclina 30µg); e inibidor do PABA (sulfazotrim 25µg).

Detecção de bactérias Gram-negativas resistentes à carbapenêmicos e ESBL:

Os swabs embebidos em caldo TSB com meropenem ou ceftriaxona foram incubados a 36°C±0,5°C por até 24 horas. As amostras que turvaram o meio foram semeadas pela técnica de esgotamento em ágar MacConkey (Kasvi®) e incubadas a 36°C±0,5°C durante 18 a 24 horas. As colônias foram submetidas à avaliação morfotintorial pela coloração de Gram, prova da oxidase e identificação bioquímica pelo sistema Bactray® I e II ou III para a identificação dos gêneros de enterobactérias ou Gram-negativos não fermentadores. As colônias puras também foram submetidas à técnica de sinergismo em disco (ANVISA, 2013) que consiste na disco-difusão com discos com meropenem, imipenem e ertapenem e discos com meropenem e imipenem associados à 10µL de solução a 0,1M de EDTA (Invitrogen®), 750µg de cloxacilina (INLAB®) e 400µg de ácido fenilborônico (INLAB®), para a detecção do tipo de carbapenemase produzida. Além disso, foi realizada a pesquisa de ESBL pelo método de disco-difusão com associação de clavulanato com aztreonam, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona e cefepima, de acordo com Souza-Junior et al. (2004).

Os antimicrobianos testados para *Acinetobacter baumannii* isolados em 2017 foram: beta-lactâmicos penicilínicos associados a inibidores de beta-lactamases (ticarcilina/clavulonato 10µg e piperacilina/tazobactam 10µg); beta-lactâmicos cefalosporínicos (3ª geração – ceftazidima 30µg e ceftriaxona 30µg e 4ª geração cefepima 30µg); cefamicínico (cefotaxima 30µg); beta-lactâmicos carbapenêmicos (imipenem 10mcg e meropenem 10µg); polipeptídeo (polimixina B 300µg); aminoglicosídeos (gentamicina 10µg, amicacina 30µg e tobramicina 10µg); quinolona (2ª geração (fluoroquinolonas) – norfloxacin 10µg e ciprofloxacina 5µg e 3ª geração – levofloxacina 5µg); tetraciclina (tetraciclina 30µg e doxiciclina 30µg); e inibidor do PABA (sulfazotrim 25µg).

Para *Burkholderia* spp. foram: beta-lactâmico aminopenicilínico associado a inibidor de beta-lactamases (ticarcilina/clavulonato 10µg); beta-lactâmico cefalosporínico de 3ª geração (ceftazidima 30µg); beta-lactâmico carbapenêmico (meropenem 10µg); e quinolona (3ª geração – levofloxacina 5µg).

E para *Pseudomonas fluorescens* foram: beta-lactâmicos penicilínicos associados a inibidores de beta-lactamases (ticarcilina/clavulonato 10µg e piperacilina/tazobactam 10µg); beta-lactâmicos cefalosporínicos (3ª geração – ceftazidima 30µg e 4ª geração cefepima 30µg); beta-lactâmicos carbapenêmicos (imipenem 10 mcg e meropenem 10µg); monobactâmico (aztreonam 15µg); aminoglicosídeos (gentamicina 10µg, amicacina 30µg e tobramicina 10µg); quinolona (2ª geração (fluoroquinolonas) – norfloxacin 10µg e ciprofloxacina 5µg e 3ª geração – levofloxacina 5µg); e polipeptídeo (polimixina B 300µg).

Detecção fenotípica de resistência antibacteriana: O perfil de resistência antimicrobiana foi realizado em Ágar Muller Hinton (Kasvi®) pelo método de disco-difusão, de acordo com (BAUER et al., 1996). Os halos de inibição foram avaliados segundo as normas do CLSI (2015; 2008) e BrCAST (2018). O índice MAR (múltipla resistência antimicrobiana), foi calculado pelo número de antimicrobianos resistentes (considerou-se os intermediários como resistentes para este cálculo) divididos pelo número de antimicrobianos testados (HINDLER; STELLING, 2007; KRUMPERMAN, 1983).

O E-test (vancomicina) (Oxoid®) foi realizado nas cepas de *Staphylococcus* spp. que não apresentaram sensibilidade à vancomicina ou teicoplanina no teste da disco-

difusão, e o E-test (meropenem) (Oxoid®) foi realizado em todas as cepas de bactérias Gram-negativas isoladas.

Detecção da produção de biofilme: A detecção fenotípica da produção de biofilme foi determinada pelo cultivo bacteriano em Ágar Vermelho Congo (CRA), conforme descrito por Freeman; Falkiner; Patrick (1989) (modificado), constituído de ágar nutriente (Himedia®) 28 g/L, sacarose (Synth®) 50 g/L e corante Vermelho Congo (Synth®) 0,8 g/L. As cepas bacterianas isoladas e caracterizadas foram semeadas em placas CRA, incubadas à temperatura de $36^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. O crescimento de colônias rugosas e pretas foi considerado como produtoras de biofilme, enquanto que as colônias lisas e vermelhas foram consideradas como não produtoras de biofilme.

MIC (Concentração Inibitória Mínima) e MBC (Concentração Bactericida Mínima): A MIC e a MBC de oxacilina foram realizadas em todos os isolados de estafilococos para caracterização de MRS. Também foi realizada a MIC e MBC para ceftriaxona e meropenem das bactérias Gram-negativas isoladas no ano de 2018 para caracterizar a resistência via produção de ESBL (ceftriaxona) e carbapenemase (meropenem). Todas as metodologias foram realizadas segundo metodologia do CLSI (2013).

Análise de dados: Os resultados obtidos foram submetidos à análise descritiva para cálculo das frequências absoluta e relativa (PETRIE; WATSON, 2009; SAMPAIO, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isoladas 60 cepas bacterianas de importância em saúde pública, sendo 23 cepas isoladas no ano de 2017 e 37 em 2018. Em 2017, em 11 dos 15 (73,33%) ambientes hospitalares avaliados ocorreu a presença de pelo menos um dos grupos de microrganismos pesquisados. A distribuição dos grupos de bactérias pesquisadas foram: em 20% (3/15) dos ambientes (Recepção, Internamento do Setor de Clínica Médica e Sala dos Residentes) foram encontrados três grupos; em 20% (3/15) dos ambientes (Ambulatório I, Sala de Medicação Pré-anestésica (MPA) I e Almoxarifado do Setor de Grandes Animais) foram encontrados dois grupos e em 33,33% (5/15) dos ambientes foi encontrado apenas um dos grupos pesquisados (Secretaria,

Internamento do Setor de Clínica Cirúrgica, Setor de Esterilização, Copa e Setor de Diagnóstico por Imagem) (**Tabela 1**). Em quatro ambientes (26,66%) não foi detectado nenhum dos grupos de microrganismos pesquisados, que foram Ambulatório II, Centro Cirúrgico I, Farmácia e Banheiros.

Em março de 2018, as cepas isoladas foram detectadas em 82,61% (19/23) dos ambientes hospitalares veterinários avaliados, e em 17,39% (4/23) dos ambientes (Técnica Operatória, Centro Cirúrgico do Setor de Grandes Animais, Farmácia e Internamento do Setor de Clínica Cirúrgica) não foram detectadas nenhum dos grupos de microrganismos pesquisados. Os quatro grupos de microrganismos pesquisados não foram encontrados simultaneamente em nenhum dos ambientes (**Tabela 1**). Três grupos de bactérias pesquisadas foram encontrados em 17,39% (4/23) dos ambientes (Setor de Esterilização, Internamento do Setor de Clínica Médica, Copa e Banheiros), dois grupos foram encontrados em 26,09% (6/23) dos ambientes (Almoxarifado do Setor de Grandes Animais, Setor de Diagnóstico por Imagem, Laboratório de Patologia Clínica, Laboratório de Parasitologia, Recepção e Sala dos residentes) e em 39,13% (9/23) dos ambientes foi encontrado apenas um dos grupos pesquisados (Centro Cirúrgico I e II, Sala de MPA I e II, Ambulatórios I, II e III, Secretaria e Sala de professores).

Os ambientes Esterilização, Almoxarifado de grandes, Internamento da Médica, Ambulatório I, Recepção, Sala dos Residentes, Copa e Banheiros foram os ambientes onde ocorreu a maior frequência de isolamento de cepas bacterianas durante o período da pesquisa (**Tabela 1**).

Em relação a frequência dos grupos bacterianos pesquisados em 2017 e 2018 foram isolados 15 cepas de *Enterococcus* spp. (25,00%), 20 cepas caracterizadas como MRS (33,33%), 14 (23,33%) ESBL e 11 (18,33%) bactérias resistentes aos carbapenêmicos (**Tabela 1**). Em 2017, *Enterococcus* spp. foram encontrados em 46,66% (7/15) dos ambientes, perfazendo 7 cepas isoladas; MRS foi encontrado em 53,33% (8/15) dos ambientes, sendo isoladas 8 cepas; e bactérias Gram-negativas resistentes a carbapenêmicos em 33,33% (5/15) dos ambientes, sendo isoladas 8 cepas. Em 2018, *Enterococcus* spp. foram encontrados em 33,78% (8/23) dos ambientes, perfazendo 8 cepas isoladas; o MRS foi encontrado em 52,17% (12/23) dos ambientes, sendo isoladas 12 cepas; bactérias Gram-negativas produtoras de

ESBL (beta-lactamase de espectro estendido) em 43,48% (10/23) dos ambientes, sendo isoladas 14 cepas; bactérias Gram-negativas resistentes a carbapenêmicos em 13,04% (3/23) dos ambientes, sendo isoladas 3 cepas.

Perfil dos *Enterococcus* spp. isolados do HVU/UEM

O perfil de resistência antimicrobiana dos *Enterococcus* spp., isolados em março de 2017 (**Tabela 2**), mostrou alta resistência aos aminoglicosídeos, a eritromicina e a rifampicina em todos os isolados. A menor resistência foi encontrada ao cloranfenicol (14,29%). O índice MAR variou de 0,267 a 0,867. Todas as cepas foram consideradas sensíveis à vancomicina pelo E-test. Os sete isolados de *Enterococcus* spp. foram identificados como produtores de biofilme pelo ágar vermelho congo.

Em março de 2018, o perfil de resistência antimicrobiana dos *Enterococcus* spp. isolados mostrou resistência à gentamicina em 50% (4/8) das amostras testadas (**Tabela 3**). O índice MAR variou de 0,000 a 0,167. Todas as cepas foram consideradas sensíveis à vancomicina pelo E-test. A alta resistência aos aminoglicosídeos foi encontrada em 50% (4/8) dos isolados.

Perfil dos *Staphylococcus* spp. isolados do HVU/UEM

Em março de 2017 foram detectadas 8 cepas estafilocócicas, sendo identificado fenotipicamente um *S. hyicus* e 7 estafilococos do grupo SIG (*Staphylococcus intermedius* group). O perfil de resistência antimicrobiana destes isolados (**Tabela 4**) detectou alta resistência antimicrobiana com índice MAR variando de 0,578 a 0,842. Sete das oito cepas isoladas de MRS foram consideradas produtoras de biofilme.

Em 2018, foram detectadas 12 cepas estafilocócicas, sendo identificado fenotipicamente sete *Staphylococcus* do grupo Intermedius (SIG), três *Staphylococcus* coagulase negativo (CoNS) e um *Staphylococcus* não foi possível ser identificado. O perfil de resistência antimicrobiana destes isolados (tabela 5) detectou alta resistência à eritromicina (72,72%) e a menor resistência foi encontrada à amicacina e a gentamicina (0,00%). O índice MAR variou de 0.000 a 0.625. Oito cepas (72,72%) foram consideradas produtoras de biofilme.

Perfil das bactérias Gram-negativas isoladas do HVU/UEM

Em 2017, das 8 bactérias Gram-negativas encontradas, 5 foram identificadas como *Acinetobacter baumannii*, duas cepas foram identificadas como *Burkholderia pseudomallei* e *Burkholderia cepacia*, e uma cepa foi identificada como *Pseudomonas fluorescens*. O perfil de resistência antimicrobiana detectou alta resistência, com índice MAR entre os *Acinetobacter baumannii* variando de 0,625 a 0,937. *Burkholderia pseudomallei* apresentou índice de resistência MAR de 1,000 e a *Burkholderia cepacia* 0,750. *Pseudomonas fluorescens* apresentou a menor resistência de todas as Gram-negativas com índice MAR de 0,428 (**Tabela 6**).

Os resultados do teste de sinergismo em disco para a detecção do tipo de carbapenemase, mostraram que 7 cepas foram produtoras de metalo-beta-lactamase pelo aumento do halo de inibição de crescimento quando associado o carbapenêmico com EDTA, já a *Burkholderia pseudomallei* foi considerada mutante deficiente de porina ou produtora de OXA-48, pela ausência de inibição do halo de crescimento com os três compostos testados. A pesquisa de ESBL realizada, apesar de suplantada pelo teste de Hodges modificado, reforça a alta resistência aos beta-lactâmicos das cepas pesquisadas. Todas as cepas mostraram MIC >32 µg/mL para meropenem pelo E-test.

Das 8 bactérias Gram-negativas isoladas, apenas a *Burkholderia pseudomallei* foi considerada produtora de biofilme.

Em março de 2018, das 14 bactérias Gram-negativas encontradas, todas foram identificadas como produtoras de ESBL pela associação em disco e das 8 testadas pela MIC/MBC para ceftriaxona, todas foram resistentes. Das 8 testadas pela MIC/MBC para meropenem, 3 foram consideradas resistentes à carbapenêmicos.

Dos enterococos isolados 46,67% (7/15) foram classificados como MDR, indicando sua capacidade de adquirir, conservar e disseminar genes de resistência com facilidade, além da sua resistência intrínseca a diversas drogas (OGUTTU; QEKWANA; ODOI, 2021; WERNER et al., 2013). Assim, deve ser destacado a possibilidade de transmissão de cepas resistentes de enterococos entre humanos e animais, por meio do contato com objetos e superfícies dentro do hospital, uma vez que podem persistir por longos períodos no ambiente hospitalar (GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019; PORWANCHER et al., 1997). Por serem considerados organismos fonte

de genes de resistência (AARESTRUP et al., 2000; COBURN et al., 2007; OGUTTU; QEKWANA; ODOI, 2021), outra preocupação é a possibilidade de transferência horizontal de genes de resistência para outras bactérias, como *Staphylococcus aureus* (DE NIEDERHÄUSERN et al., 2011).

A resistência fenotípica apresentada pelos *Enterococcus* spp. deste estudo aos aminoglicosídeos (gentamicina e estreptomicina) pode ser explicado devido a sua resistência intrínseca. Quando os aminoglicosídeos são usados em monoterapia para tratamento de infecções enterocócicas é necessário concentrações muito altas desse medicamento para que atinja seu local de ação (BADDOUR et al., 2015), pois ocorre diminuição de sua captação levando a baixa capacidade de penetração na célula bacteriana. Com isso, é observado efeito sinérgico com a associação do aminoglicosídeo (gentamicina ou estreptomicina) com outras drogas que possuem ação na parede celular, como os beta-lactâmicos e glicopeptídeos, que permitem que o aminoglicosídeo alcance seu local de ação devido a alteração na estrutura da parede celular bacteriana (HODGES et al., 1992; MILLER; MURRAY; ARIAS, 2008; SAPICO et al., 1989). A terapia associativa entre essas drogas já se mostrou eficaz, levando a melhora das taxas de cura clínica e menores taxas de recidivas (MANDELL; KAYE, 1970; WEINSTEIN; MOELLERING, 1973). Porém, o efeito sinérgico não é mais observado quando ocorre a aquisição de altos níveis de resistência a aminoglicosídeos (HLAR - High-level Resistance to Aminoglycosides), resistência devido a aquisição de genes que codificam enzimas específicas que promovem modificações nos aminoglicosídeos (MILLER; MURRAY; ARIAS, 2008).

A resistência fenotípica dos *Enterococcus* spp. para os fármacos beta-lactâmicos, como a penicilina e ampicilina, pode ocorrer devido a mutações nos genes *pbp5*, que codificam proteínas de ligação de penicilinas (PBPs) alteradas, levando a diminuição na afinidade por essas drogas (MILLER; MURRAY; ARIAS, 2008; MOELLERING, 1991), ou devido a produção de enzimas beta-lactamases. Assim, mesmo em concentrações terapêuticas do antibiótico, os enterococos são capazes de realizar a síntese de peptidoglicanos para a composição da parede celular bacteriana (MURRAY, 1990; ZHANG et al., 2012).

Assim como foi observado neste estudo um alto nível de estafilococos resistentes a múltiplas drogas (MDR) (45%- 9/20), um outro estudo abrangendo

amostras de humanos e ambiente hospitalar veterinário, também encontrou cepas MRSA e MRSP altamente resistentes. Neste mesmo trabalho foi relatado a presença dessas bactérias em locais de alta concentração e movimentação de funcionários, tutores e cães como na sala de espera do hospital e também a transmissão de bactérias dentro do hospital veterinário (FEBLER et al., 2018). Resultado similar foi indicado no presente estudo, em que foram isolados maior número de cepas nos locais Sala dos residentes, Copa, Banheiros e Recepção, devido ao alto fluxo de médicos veterinários, estudantes e tutores nesses ambientes.

Neste estudo, para as cepas de *Staphylococcus* spp. isolados, todas foram sensíveis à vancomicina no teste de sensibilidade aos antimicrobianos, porém todas foram resistentes a teicoplanina (no ano de 2017), ambas pertencentes a classe dos glicopeptídeos, que são drogas utilizadas no tratamento de infecções por MRSA. Também se mostraram sensíveis a linezolida (oxazolidinonas), que pode ser utilizada como uma alternativa no tratamento.

Em relação às bactérias Gram-negativas isoladas em 2017, 87,5% (7/8) das bactérias foram consideradas produtoras de carbapenemases, pela produção de metalo-beta-lactamase no teste de sinergismo em disco, e em 2018 todas as Gram-negativas isoladas foram produtoras de ESBL e três resistentes aos carbapenêmicos. A alta frequência de 23,33% (n=14) de ESBLs encontrada demonstra a importância de pesquisar fenotipicamente a presença de ESBLs na rotina laboratorial, inclusive em espécies não-*E. coli* e não-*Klebsiella* sp. (LAGO; FUENTEFRIA; FUENTEFRIA, 2010). Quando essas bactérias são encontradas, o controle ambiental deve ser aumentado, com higiene e desinfecção das instalações e equipamentos e tentativas de reduzir a pressão seletiva pelo uso consciente de antimicrobianos (FERNANDO; GRAY; GOTTLIEB, 2017). Estudos em humanos sugerem que o transporte dessas bactérias de um paciente para outro, pelas mãos, é um meio importante de disseminação de bactérias resistentes (PATERSON; BONOMO, 2005). As medidas de controle de infecção hospitalar devem incluir a descoberta da fonte de infecção ambiental, pois as bactérias produtoras de carbapenemases e ESBL podem formar biofilmes e ter sua sobrevivência aumentada em ambientes hospitalares bem como equipamento e instrumentos médicos, tornando o ambiente reservatório de microrganismos (ABREU et al., 2013).

A presença dessas enzimas contribuiu para diminuição da eficácia terapêutica, sendo um problema de saúde pública (LIVERMORE, 2009), pois os humanos e animais portadores podem ser responsáveis pela transmissão de infecção nosocomial (VALVERDE et al., 2004). Por isso, funcionários e médicos veterinários devem ser incentivados a adotar procedimentos de higiene das mãos, além da prática do monitoramento e isolamento de pacientes infectados (PATERSON; BONOMO, 2005).

Das bactérias testadas fenotipicamente para produção de biofilme, 67,65% (23/34) foram positivas no teste de CRA. A capacidade de formar biofilmes e assim persistir no ambiente reforçam a necessidade da tomada de medidas de controle de infecção hospitalar, com procedimentos adequados de higiene e desinfecção, além de investimento na formação de pessoal de limpeza.

Contaminação ambiental do HVU/UEM

Neste estudo foi identificado alta contaminação ambiental do hospital veterinário, onde foi isolado pelo menos um dos microrganismos de interesse em 73,33% e 82,61% dos ambientes pesquisados para o ano de 2017 e 2018, respectivamente.

Nas coletas realizadas, sete cepas (11,67%) foram isoladas no ambiente do Internamento da Médica, seis cepas (10,00%) na Sala dos residentes, cinco cepas (8,33%) na Recepção, Copa e Banheiros, todos estes sendo ambientes com alto fluxo de funcionários, médicos veterinários e até de tutores e seus cães. Estes dados indicam a grande possibilidade de transmissão dessas cepas para outros locais, pessoas e animais.

Deve-se notar a persistência de contaminação de alguns ambientes amostrados nos anos deste estudo, principalmente para *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp, em que ambos os gêneros se mostraram presentes no ano de 2017 e novamente em 2018 (**Tabela 1**), como observado para *Enterococcus* spp. no Almojarifado de Grandes, Sala de MPA 1, Ambulatório 1, Recepção e Copa. Para *Staphylococcus* spp. isso foi observado na Sala de Esterilização, Internamento da Médica, Centro de Imagem, Recepção, Secretaria e Sala dos Residentes. Devido à alta quantidade de cepas isoladas em alguns desses ambientes e por serem

ambientes de alto fluxo de pessoas, as medidas de controle de infecção hospitalar nesses ambientes devem ser mais efetivas

Em um outro estudo realizado em um hospital veterinário avaliando a contaminação ambiental apenas por MRSA, encontraram prevalência de 10% dos locais amostrados (LOEFFLER et al., 2005). Estes resultados associados a capacidade dos organismos de se transferir do ambiente para seres humanos e animais por meio do contato (MANIAN, 2003), destacam o ambiente hospitalar como fonte de infecção de microrganismos resistentes para os seres humanos que ali trabalham (HELLER et al., 2009), bem como para os animais hospitalizados, podendo estes atuar como reservatórios de bactérias resistentes para a população humana (LIVE; NICHOLS, 1961). Diminuir a contaminação ambiental pode ajudar a controlar a propagação de bactérias resistentes em hospitais e conseqüentemente na comunidade, visto que reduziria a chance de um paciente internado adquirir uma cepa resistente (DANCER, 2008).

Dos ambientes amostrados, apenas a farmácia se manteve ausente para as bactérias de interesse deste estudo em ambas as coletas (**Layout 1**).

Em outros trabalhos realizados, diversos locais como maçanetas, teclados de computador, canetas, camas de pacientes, instrumentos médicos, como estetoscópios, foram relatados como mais prováveis de abrigar MRS, indicando ampla contaminação do ambiente hospitalar por essa bactéria (DANCER, 2008; HOSOKAWA; KAMIYA, 2002), além da sua facilidade de disseminação (DANCER, 2008).

Taggar et al. (2020) relatam que os animais de companhia podem ser infectados com bactérias produtoras de carbapenemases por meio do contato direto com hospedeiros colonizados e ambiente contaminado, além da possibilidade de se tornar reservatórios, implicando no risco de transmissão desses microrganismos para os humanos (LERNER et al., 2013). O ambiente contaminado por esses agente pode atuar como vetor na sua disseminação, tendo como controle a adoção de métodos de limpeza e desinfecção de superfícies e materiais usados por portadores (LERNER et al., 2013; TAGGAR et al., 2020).

Este estudo demonstrou que cepas de MRS, *Enterococcus* spp., ESBLs e bactérias produtoras de carbapenemases estão presentes no ambiente deste hospital

veterinário, evidenciando a significativa capacidade de o mesmo ambiente ser fonte de infecção para diversos microrganismos. Estes resultados destacam a importância de melhorar a conduta dos veterinários em relação as prescrições de antimicrobianos, assim como a necessidade de instalação de um programa de controle de infecção hospitalar, com o estabelecimento de um procedimento rigoroso de limpeza e desinfecção e educação da equipe do hospital, para prevenir a disseminação de bactérias resistentes entre os pacientes e funcionários (ROUDAUD; ALLANO, 2018). Além disso, a lavagem das mãos, junto com a limpeza do meio ambiente foi associada a uma redução da incidência de doenças adquiridas em hospitais humanos (PITTET et al., 2001). Levando-se em consideração que as cepas de microrganismos resistentes podem persistir por longos períodos em ambientes veterinários, é importante para prevenção de infecções o monitoramento periódico desses locais, avaliando questões como a rota de transmissão, epidemiologia e as medidas de higiene (SATO et al., 2018).

Outra medida para reduzir a transmissão de organismos multirresistentes é a detecção precoce das cepas multirresistentes e a redução da circulação de pessoas e animais dentro do ambiente hospitalar veterinário (FEBLER et al., 2018), visto que muitas bactérias de interesse foram encontrados em áreas de grande circulação de pessoas e animais como o ambiente da recepção, sala de residência, sala de MPA e internamento, associado também ao aumento de medidas de limpeza e desinfecção nessas áreas de alta concentração de pessoas e animais.

CONCLUSÃO

O surgimento de microrganismos resistentes às diversas classes de antimicrobianos tem aumentado nos últimos anos, tornando-se uma ameaça à saúde pública. São necessárias intervenções eficazes no ambiente hospitalar, que devem se concentrar em medidas de higiene, como boas práticas de antisepsia das mãos dos funcionários e visitantes, bem como em protocolos sistemáticos de limpeza e desinfecção englobando todos os locais do ambiente hospitalar. Além disso, os médicos veterinários devem realizar o controle do uso de antimicrobianos, escolhendo os antimicrobianos que serão utilizados de acordo com os testes de sensibilidade aos antimicrobianos, e também ser incentivados a lavar as mãos antes e depois do contato

com pacientes. São medidas necessárias para minimizar o problema da resistência antimicrobiana e reduzir o transporte nosocomial de bactéria multirresistentes, com foco no manejo correto dos antimicrobianos e cumprimento de medidas de higiene para prevenção de infecções hospitalares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F M et al. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community , broilers , and pigs in Denmark. v. 37, p. 127–137, 2000.

ABREU, A. C et al. Current and emergent strategies for disinfection of hospital environments. n. July, p. 2718–2732, 2013.

AIRES-DE-SOUSA, M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 6, p. 373–380, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2016.11.002>>.

ALI, S. A. et al. Environmental enterococci: I. Prevalence of virulence, antibiotic resistance and species distribution in poultry and its related environment in Karachi, Pakistan. **Letters in Applied Microbiology**, v. 58, n. 5, p. 423–432, 2014.

AMINOV, Rustam I. Minireview The role of antibiotics and antibiotic resistance. v. 11, p. 2970–2988, 2009.

BADDOUR, Larry M. et al. **Infective endocarditis in adults: Diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: A scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association**. [S.l.: s.n.], 2015. v. 132.

BALEN, Joany Van et al. of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Small Animal Teaching Hospital : A Year-Long Active Surveillance. v. 13, n. 5, 2013.

BARTASH, Rachel; NORI, Priya. Beta-lactam combination therapy for treatment of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* species bacteremias: A summary and appraisal of the evidence. **International Journal of Infectious Diseases**, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2017.07.019>>.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic Susceptibility Testing By a Standardized Single Disk Method. v. 36, n. 3, p. 493–496, 1996.

BEGANOVIC, Maya et al. A review of combination antimicrobial therapy for *enterococcus faecalis* bloodstream infections and infective endocarditis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 67, n. 2, p. 303–309, 2018.

BENEDICT, Katharine M.; MORLEY, Paul S.; VAN METRE, David C. Characteristics

of biosecurity and infection control programs at veterinary teaching hospitals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 233, n. 5, p. 767–773, 2008.

BIEROWIEC, Karolina; KATARZYNA, P; RYPU, Krzysztof. Is the Colonisation of *Staphylococcus aureus* in Pets Associated with Their Close Contact with Owners ? p. 1–14, 2016.

BLAKE, Amanda B.; SUCHODOLSKI, Jan S. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. **Animal Frontiers**, v. 6, n. 3, p. 37–42, 2016.

BRAIEK, O.B; SMAOUI, S. Enterococci : Between Emerging Pathogens and Potential Probiotics. v. 2019, 2019.

BREATHNACH, Aodhán S. Nosocomial infections and infection control. **Medicine (United Kingdom)**, v. 41, n. 11, p. 649–653, 2013.

BURGESS, B A; MORLEY, P S. Risk factors for veterinary hospital environmental contamination with *Salmonella enterica*. 2018.

BYAPPANAHALLI, Muruleedhara N. et al. Enterococci in the Environment. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 76, n. 4, p. 685–706, 2012.

CARVALHO, S et al. *Enterococcus caccae* sp . nov ., isolated from human stools Printed in Great Britain. p. 1505–1508, 2006.

CHIANG, Hsiu-yin et al. Incidence and Outcomes Associated With Infections Caused by Vancomycin-Resistant Enterococci in the United States : Systematic Literature Review and Meta-Analysis. 2016.

CHO, S.; JACKSON, C.R.; FRYE, J.G. The prevalence and antimicrobial resistance phenotypes of *Salmonella* , *Escherichia coli* and *Enterococcus* sp . in surface water. p. 3–25, 2020.

COBURN, Phillip S et al. Horizontal transfer of virulence genes encoded on the *Enterococcus faecalis* pathogenicity island. v. 63, n. December 2006, p. 530–544, 2007.

COLLIGNON; MCEWEN. One Health — Its Importance in Helping to Better Control Antimicrobial Resistance. 2019.

COLLIGNON, P. Antibiotic resistance : are we all doomed ? v. 45, 2015.

DALEY, Peter et al. A cross sectional study of animal and human colonization with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in an Aboriginal community. **BMC Public Health**, v. 16, n. 1, p. 1–7, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12889-016-3220-9>>.

DANCER, Stephanie J. Importance of the environment in methicillin-resistant

Staphylococcus aureus acquisition : the case for hospital. p. 101–113, 2008.

DE NIEDERHÄUSERN, Simona et al. Vancomycin-resistance transferability from VanA enterococci to Staphylococcus aureus. **Current Microbiology**, v. 62, n. 5, p. 1363–1367, 2011.

DENNESEN, Paul J.W.; BONTEN, Marc J.M.; WEINSTEIN, Robert A. Multiresistant bacteria as a hospital epidemic problem. **Annals of Medicine**, v. 30, n. 2, p. 176–185, 1998.

DOMIG, Konrad J.; MAYER, Helmut K.; KNEIFEL, Wolfgang. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of Enterococcus spp. - 2. Pheno- and genotypic criteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, n. 2–3, p. 165–188, 2003.

ECONOMOU, Vangelis et al. Antibiotic Resistance in Enterococcus spp . Friend or Foe ? p. 365–395, 2017.

FEBLER, Andrea T. et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius (MRSP) among employees and in the environment of a small animal hospital. **Veterinary Microbiology**, v. 221, p. 153–158, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.06.001>>.

FERNANDO, Shelanah A; GRAY, Timothy J; GOTTLIEB, Thomas. Healthcare-acquired infections : prevention strategies Carbapenemase-producing. v. 47, p. 1341–1351, 2017.

FISHER, Katie; PHILLIPS, Carol. The ecology , epidemiology and virulence of Enterococcus. p. 1749–1757, 2009.

FOULQUIÉ MORENO, M.R et al. The role and application of enterococci in food and health. v. 106, p. 1–24, 2006.

FREEMAN, D J; FALKINER, F R; PATRICK, Sir. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. p. 872–874, 1989.

FRIEDRICH, Alex W. Control of hospital acquired infections and antimicrobial resistance in Europe : the way to go. **Med, Wien Suppl, Wochenschr S, S**, p. 25–30, 2019.

GARCÍA-SOLACHE, Mónica; RICE, Louis B. The enterococcus: A model of adaptability to its environment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 1–28, 2019.

GIRAFFA; GIORGIO. Enterococci from foods. v. 26, p. 163–171, 2002.

GOODACRE, Royston et al. An epidemiological study of Staphylococcus intermedius strains isolated from dogs, their owners and veterinary surgeons. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 44, n. 1, p. 49–64, 1997.

GRÖNTHAL, Thomas et al. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and the molecular epidemiology of methicillin-resistant *S. pseudintermedius* in small animals in Finland. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 4, p. 1021–1030, 2017.

GUARDABASSI, L.; LOEBER, M. E.; JACOBSON, A. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. **Veterinary Microbiology**, v. 98, n. 1, p. 23–27, 2004.

GUERRERO-RAMOS, Emilia et al. Antimicrobial resistance and virulence genes in enterococci from wild game meat in Spain. v. 53, p. 156–164, 2016.

HANSELMAN, Beth A. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in veterinary personnel. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 12, p. 1933–1938, 2006.

HARBARTH, S; SAX, H; GASTMEIER, P. The preventable proportion of nosocomial infections : an overview of published reports. v. 6701, p. 258–266, 2003.

HELLER, J. et al. Prevalence and distribution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* within the environment and staff of a university veterinary clinic. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. 4, p. 168–173, 2009.

HINDLER, Janet F; STELLING, John. Analysis and Presentation of Cumulative Antibiograms: A New Consensus Guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. v. 44, p. 867–873, 2007.

HODGES, T. L. et al. Antimicrobial susceptibility changes in *Enterococcus faecalis* following various penicillin exposure regimens. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 36, n. 1, p. 121–125, 1992.

HOLMES, Alison H et al. Antimicrobials : access and sustainable effectiveness 2 Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. v. 6736, n. 15, 2015.

HUGAS, Marta; GARRIGA, M; AYMERICH, M T. Functionality of enterococci in meat products. v. 88, p. 223–233, 2003.

HUIJBERS, Patricia et al. Role of the environment in the transmission of antimicrobial resistance to humans : A review. 2015.

HUR, Brian A. et al. Describing the antimicrobial usage patterns of companion animal veterinary practices; Free text analysis of more than 4.4 million consultation records. **PLoS ONE**, v. 15, n. 3, p. 1–15, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0230049>>.

ISHIHARA, Kanako et al. Occurrence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant staphylococcus

pseudintermedius in an academic veterinary hospital. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 15, p. 5165–5174, 2010.

KIM, Dae Ho et al. Antimicrobial resistance and virulence profiles of *Enterococcus* spp. isolated from horses in Korea. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 48, p. 6–13, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2016.07.001>>.

KLUYTMANS, J; VAN BELKUM, A; VERBRUGH, H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, n. 3, p. 505–520, 1997.

KOPOTSA, Katlego; SEKYERE, John Osei. Plasmid evolution in carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: a review. p. 1–31, 2019.

KRUMPERMAN, Paul H. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to Identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foodst. v. 46, n. 1, p. 165–170, 1983.

LAGO, Aldalise; FUENTEFRIA, Sergio Roberto; FUENTEFRIA, Bopp. Artigo / Article *Enterobactérias produtoras de ESBL em Passo Fundo, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil* ESBL-producing enterobacteria in Passo Fundo, State of Rio Grande do Sul, Brazil. v. 43, n. 4, p. 430–434, 2010.

LARSON, Elaine. SPECIAL ARTICLE *A retrospective on infection control. Part 1: Nineteenth century - Consumed by fire*. p. 236–241, 1997.

LEBRETON, François; SCHAİK, Willem Van; MANSON, Abigail. Emergence of Epidemic Multidrug-Resistant *Enterococcus faecium*. **American Society for Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 1–10, 2013.

LEE, Eun-woo et al. EfrAB, an ABC Multidrug Efflux Pump in. **Society**, v. 47, n. 12, p. 3733–3738, 2003.

LERNER, A et al. Environmental Contamination by Carbapenem-Resistant. v. 51, n. 1, p. 177–181, 2013.

LEVINE, Donald P. Vancomycin: A History. v. 42, n. Suppl 1, p. 5–12, 2006.

LINDEN, Peter K. Optimizing therapy for vancomycin-resistant enterococci (VRE). **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 28, n. 6, p. 632–645, 2007.

LIU, Song et al. Antimicrobial Resistance Profiles of Nosocomial Pathogens in Regional China: A Brief Report from Two Tertiary Hospitals in China. p. 8602–8607, 2018.

LIVE, I.; NICHOLS, A C. THE ANIMAL HOSPITAL AS A SOURCE OF ANTIBIOTIC-RESISTANT STAPHYLOCOCCI * percentage of senior students at the School of

Veterinary IV medicine suffered from troublesome skin infections (deep culture survey on the entire student body revealed that about 50. 1961.

LIVERMORE, David M. Has the era of untreatable infections arrived? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 64, n. SUPPL.1, p. 29–36, 2009.

_____. B-Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 8, n. 4, p. 557–584, 1995.

LOEFFLER, Anette et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, n. 4, p. 692–697, 2005.

MANDELL, Gerald L.; KAYE, Donald. Enterococcal Endocarditis. **Arch Intern Med**, v. 125, p. 258–264, 1970.

MANIAN, Farrin A. Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 36, n. 2, p. 26–28, 2003.

MCEWEN, Scott A; COLLIGNON, Peter J. Antimicrobial Resistance: A One Health Colloquium. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 2, p. 1–26, 2018. Disponível em: <www.chathamhouse.org>.

MESSER, James W.; DUFOUR, Alfred P. A rapid, specific membrane filtration procedure for enumeration of enterococci in recreational water. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 2, p. 678–680, 1998.

MILLER, William R.; MUNITA, Jose M.; ARIAS, Cesar A. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 12, n. 10, p. 1221–1236, 2014.

MILLER, William R.; MURRAY, Barbara E.; ARIAS, Cesar A. Emergence and management of drug-resistant enterococcal infections. **Microbial Drug Resistance**, p. 43–54, 2008.

MOELLERING, Robert C. The enterococcus: A classic example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic options. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 28, n. 1, p. 1–12, 1991.

MOHAMED, Jamal A; HUANG, David B. Biofilm formation by enterococci. p. 1581–1588, 2007.

MORAES, P. M. et al. Bacteriocinogenic and virulence potential of *Enterococcus* isolates obtained from raw milk and cheese. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, n. 2, p. 318–328, 2012.

MORRIS, Daniel O. et al. The prevalence of carriage of methicillin-resistant

staphylococci by veterinary dermatology practice staff and their respective pets. **Veterinary Dermatology**, v. 21, n. 4, p. 400–407, 2010.

MULLER, T. et al. Identification of plant-associated enterococci. n. 1999, p. 268–278, 2001.

MURPHY, C P; WEESE, J S; MCEWEN, S A. Evaluation of Specific Infection Control Practices Used by Companion Animal Veterinarians in Community Veterinary Practices in Southern Ontario. v. 57, p. 429–438, 2010.

MURRAY, B.E. VANCOMYCIN-RESISTANT ENTEROCOCCAL INFECTIONS. 2000.

MURRAY, Barbara E. The life and times of the enterococcus. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 3, n. 1, p. 46–65, 1990.

NASER, Sabri M et al. *Enterococcus canintestini* sp. nov., from faecal samples of healthy dogs. p. 2177–2182, 2005.

NGUYEN-VIET, Hung et al. Reduction of antimicrobial use and resistance needs sectoral-collaborations with a One Health approach: perspectives from Asia. **International Journal of Public Health**, 2016.

NIEMI, R Maarit et al. *Enterococcus rivorum* sp. nov., from water of pristine brooks. p. 2169–2173, 2012.

NORDMANN, P et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. 2012.

NORDMANN, Patrice; NAAS, Thierry; POIREL, Laurent. Global Spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. v. 17, n. 10, p. 1791–1798, 2011.
O'MAHONY, R. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel in Ireland. **Veterinary Microbiology**, v. 109, n. 3–4, p. 285–296, 2005.

OGUTTU, James Wabwire; QEKWANA, Daniel Nenene; ODOI, Agricola. Prevalence and Predictors of Antimicrobial Resistance Among *Enterococcus* spp. From Dogs Presented at a Veterinary Teaching Hospital, South Africa. v. 7, n. January, 2021.

OIE, S; HOSOKAWA, I; KAMIYA, A. *Staphylococcus aureus*. n. March, p. 140–143, 2002.

OLIVEIRA, David M P De et al. Cross-sectional Antimicrobial Resistance in ESCAPE Pathogens. v. 33, n. 3, p. 1–49, 2020.

ORTIZ-DÍEZ, Gustavo et al. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases Epidemiology of the colonization and acquisition of methicillin-resistant staphylococci and vancomycin-resistant enterococci in dogs hospitalized in a clinic

veterinary hospital in Spain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 72, n. January, p. 101501, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101501>>.

OSSIPRANDI, Maria Cristina et al. Susceptibility to vancomycin and other antibiotics of 165 Enterococcus strains isolated from dogs in Italy. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 31, n. 1, p. 1–9, 2008.

PAPP-WALLACE, Krisztina M et al. MINIREVIEW Carbapenems : Past , Present , and Future □. v. 55, n. 11, p. 4943–4960, 2011.

PATERSON, D. L.; BONOMO, R. A. Extended spectrum beta lactamases: A critical update. **CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS**, v. 18, n. 4, p. 657–686, 2005.

PITTET, D et al. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. **Journal of Marine Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 84–90, 2001.

PORWANCHER, R. et al. Epidemiological Study of Hospital-Acquired Infection with Vancomycin-Resistant Enterococcus faecium : Possible Transmission by an Electronic Ear-Probe Thermometer Author (s): Richard Porwancher , Anish Sheth , Susan Remphrey , Eileen Taylor , Cynthia Hi. v. 18, n. 11, p. 5–8, 1997.

PRESTINACI, Francesca; PEZZOTTI, Patrizio; PANTOSTI, Annalisa. Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. **Pathogens and Global Health**, v. 109, n. 7, p. 309–318, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>>.

RATHNAYAKE, I. U.; HARGREAVES, M.; HUYGENS, F. Genotyping of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium isolates by use of a set of eight single nucleotide polymorphisms. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 367–372, 2011.

ROUDAUD, Marine; ALLANO, Marion. A retrospective study on methicillin-resistant. n. 8, p. 1197–1202, 2018.

ROYDEN, Alexandra et al. Prevalence of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli in veterinary hospital staff and students. **Veterinary Record Open**, v. 6, n. 1, 2019.

SANDORA, Thomas J; GOLDMANN, Donald A. Preventing Lethal Hospital Outbreaks of Antibiotic-Resistant Bacteria. p. 2168–2170, 2012.

SAPICO, F. L. et al. Enterococci highly resistant to penicillin and ampicillin: An emerging clinical problem? **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, n. 9, p. 2091–2095, 1989.

SATO, Tomomi et al. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among veterinary staff in small animal hospitals in Sapporo, Japan, between 2008 and

2016: A follow up study. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 24, n. 7, p. 588–591, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.01.016>>.

SEKYERE, John Osei. Molecular epidemiology and mechanisms of antibiotic resistance in *Enterococcus* spp ., *Staphylococcus* spp ., and *Streptococcus* spp . in Africa : a systematic review from a One Health perspective. p. 1–30, 2019.

SHOEN, Hanna R C et al. Comparative Immunology , Microbiology and Infectious Diseases Analysis of *Staphylococcus* infections in a veterinary teaching hospital from 2012 to 2015. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 66, n. June, p. 101332, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101332>>.

STULL, Jason W; WEESE, J S. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information. **Vet Clin North Am Small Anim Pract.**, n. January, 2015.

SUKMAWINATA, Eddy et al. Antimicrobial Resistant *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, and Other *Enterococcus* Species Isolated From Foal Feces in Japan. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 63, p. 51–54, 2018.

SUN. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information. **American Journal of Infection Control**, n. January, 2016.

TAGGAR, Gurleen et al. Molecular Epidemiology of Carbapenemases in Enterobacteriales from Humans , Animals , Food and the Environment. 2020.

THU, Wink Phy et al. Prevalence, antimicrobial resistance, virulence gene, and class 1 integrons of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* from pigs, pork and humans in Thai-Laos border provinces. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 18, p. 130–138, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.05.032>>.

UBUKATA, Kimiko et al. Expression and Inducibility in *Staphylococcus aureus* of the *mecA* Gene , Which Encodes a Methicillin-Resistant S . aureus-Specific Penicillin-Binding Protein. v. 171, n. 5, p. 2882–2885, 1989.

VALVERDE, Aránzazu et al. Dramatic Increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae during nonoutbreak situations in Spain. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 10, p. 4769–4775, 2004.

VAN DEN BERGHE, Erika; DE WINTER, Tom; DE VUYST, Luc. Enterocin A production by *Enterococcus faecium* FAIR-E 406 is characterised by a temperature- and pH-dependent switch-off mechanism when growth is limited due to nutrient depletion. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107, n. 2, p. 159–170,

2006.

VAN DEN BOGAARD, Anthony E.; STOBBERINGH, Ellen E. Epidemiology of resistance to antibiotics: Links between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 14, n. 4, p. 327–335, 2000.

VAN DUIJKEREN, E. et al. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics. **Veterinary Microbiology**, v. 150, n. 3–4, p. 338–343, 2011.

VERHOEVEN, P.O et al. Detection and clinical relevance of *Staphylococcus aureus* nasal carriage: An update. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 12, n. 1, p. 75–89, 2014. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84893089204&partnerID=40&md5=0ec1f1eaf09a9be121e6def3685025cb%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed11&NEWS=N&AN=2014075374>>.

WALTHER, Birgit et al. Sharing More than Friendship — Nasal Colonization with Coagulase-Positive *Staphylococci* (CPS) and Co- Habitation Aspects of Dogs and Their Owners. v. 7, n. 4, 2012.

WALTHER, Birgit; TEDIN, Karsten; LÜBKE-BECKER, Antina. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. **Veterinary Microbiology**, v. 200, p. 71–78, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.05.017>>.

WEESE, J. S. et al. Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. **Veterinary Microbiology**, v. 115, n. 1–3, p. 148–155, 2006.

WEESE, J Scott; PAGE, Stephen W; PRESCOTT, John F. in *Animals*. p. 117–132, 2013.

WEINSTEIN, Allan J.; MOELLERING, Robert C. Penicillin and Gentamicin Therapy For Enterococcal Infections. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 223, n. 9, p. 1030–1032, 1973.

WERNER, Guido et al. Antibiotic resistant enterococci — Tales of a drug resistance gene trafficker. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, n. 6–7, p. 360–379, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.03.001>>.

WHO. Antimicrobial resistance. 2014.

WORTHING, Kate A. et al. Molecular Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Australian Animals and Veterinarians. **Microbial Drug Resistance**, v. 24, n. 2, p. 203–212, 2017.

ZHANG, Xinglin et al. Genome-wide identification of ampicillin resistance determinants in *enterococcus faecium*. **PLoS Genetics**, v. 8, n. 6, 2012.

Tabela 1. Detecção de bactérias de importância em saúde pública em diferentes ambientes do HVU/UEM em coletas realizadas em março de 2017 e em março de 2018

Locais	<i>Enterococcus</i> spp.		MRS		ESBL		CR		Total de cepas	
	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018
Centro Cirúrgico I	0	0	0	1	nt	0	0	0	0	1
Centro Cirúrgico II	nt	0	nt	0	nt	1	nt	0	nt	1
Téc. Operatória	nt	0	nt	0	nt	0	nt	0	nt	0
Centro Cir. Gr.	nt	0	nt	0	nt	0	nt	0	nt	0
Esterilização	0	1	1	1	nt	1	0	0	1	3
Farmácia	0	0	0	0	nt	0	0	0	0	0
Almoxar. grandes	1	1	1	0	nt	1	0	0	2	2
Intern. Cirúrgica	0	0	0	0	nt	0	2	0	2	0
Sala de MPA I	1	1	1	0	nt	0	0	0	2	1
Sala de MPA II	nt	0	nt	1	nt	0	nt	0	nt	1
Intern. Médica	1	0	1	1	nt	1	2	1	4	3
Ambulatório I	1	1	0	0	nt	0	2	0	3	1
Ambulatório II	0	1	0	0	nt	0	0	0	0	1
Ambulatório III	nt	1	nt	0	nt	0	nt	0	nt	1
Centro de Imagem	0	0	1	1	nt	1	0	0	1	2
Patologia Clínica	nt	0	nt	1	nt	1	nt	0	nt	2
Parasitologia	nt	0	nt	0	nt	1	nt	1	nt	2
Recepção	1	1	1	1	nt	0	1	0	3	2
Secretaria	0	0	1	1	nt	0	0	0	1	1
Sala Residentes	1	0	1	1	nt	2	1	0	3	3
Copa	1	1	0	1	nt	2	0	0	1	4
Banheiros	0	0	0	1	nt	3	0	1	0	5
Sala professor	nt	0	nt	1	nt	0	nt	0	nt	1
Total	7	8	8	12	nt	14	8	3	23	37

nt: não testado

Tabela 2. Perfil de resistência antimicrobiana dos *Enterococcus* spp. isolados em 2017 nos diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	<i>Enterococcus</i> spp. Recepção	<i>Enterococcus</i> spp. MPA I	<i>Enterococcus</i> spp. Sala Residência	<i>Enterococcus</i> spp. Ambulatório I	<i>Enterococcus</i> spp. Int. Médica	<i>Enterococcus</i> spp. Copa	<i>Enterococcus</i> spp. Almoxarifado Grandes	Resistência %
Penicilina	R	R	R	S	S	S	S	42,9
Ampicilina	R	R	R	S	S	R	S	57,1
Vancomicina	S	S	S	I	S	I	S	28,6
Teicoplanina	I	R	S	S	S	S	S	28,6
Gentamicina	R	R	R	R	R	R	S	85,7
Estreptomicina	R	R	R	R	R	R	R	100
Eritromicina	R	R	R	I	R	R	R	100
Clorofenicol	S	S	S	I	S	S	S	14,3
Nitrofurantóina	R	R	I	S	I	S	S	57,1
Rifampicina	R	R	R	R	R	R	R	100
Tetraciclina	R	R	R	R	R	R	S	85,7
Doxiclina	R	R	R	I	R	R	S	85,7
Ciprofloxacina	R	R	R	R	R	S	R	85,7
Enrofloxacina	R	R	R	R	R	S	S	71,4
Levofloxacina	R	R	R	S	S	S	S	42,9
MAR	0,867	0,867	0,800	0,667	0,600	0,533	0,267	
Biofilme	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	

neg: negativo; pos: positivo; R: resistente; S: sensível; I: intermediário; nt: não testado.

Tabela 3. Perfil de resistência antimicrobiana dos *Enterococcus* spp. isolados em 2018 nos diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	<i>Enterococcus</i> spp. Recepção	<i>Enterococcus</i> spp. MPA I	<i>Enterococcus</i> spp. Ambulatório I	<i>Enterococcus</i> spp. Ambulatório II	<i>Enterococcus</i> spp. Ambulatório III	<i>Enterococcus</i> spp. Almoxarifado Grandes	<i>Enterococcus</i> spp. Esterilização	<i>Enterococcus</i> spp. Esterilização Copa	Resistência %
Ampicilina	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Vancomicina	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Teicoplanina	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Gentamicina	S	R	R	R	R	S	S	S	50,0
Estreptomicina	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Clorofenicol	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
MAR	0,000	0,167	0,167	0,167	0,167	0,000	0,000	0,000	
Biofilme	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	

R: resistente; S: sensível; nt: não testado

Tabela 4. Perfil de resistência antimicrobiana dos *Staphylococcus* spp. Resistentes à Meticilina (MRS) isolados em 2017 de diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	<i>S. hyicus</i> Esterilização	<i>S. intermedius</i> Sala da residência	<i>S. intermedius</i> Recepção	<i>S. intermedius</i> MPA I	<i>S. intermedius</i> Internamento Médica	<i>S. pseudointermedius</i> Secretaria	<i>S. intermedius</i> Centro de Imagem	<i>S. intermedius</i> Almoxarifado Grandes	Resistência %
Penicilina	R	R	R	R	R	R	R	R	100,0
Oxacilina	R	R	R	R	R	R	R	R	100,0
Cefoxitina	R	R	R	R	R	R	R	R	100,0
Vancomicina*	-	-	S	S	S	S	S	-	0,0
Teicoplanina	R	I	I	I	I	I	I	R	100,0
Linezolida	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0
Amicacina	I	S	S	S	S	S	S	S	12,5
Gentamicina	R	S	S	I	S	I	I	R	62,5
Eritromicina	R	R	R	R	S	I	R	R	87,5
Azitromicina	R	R	R	R	S	I	R	R	87,5
Clindamicina	R	I	S	I	R	I	R	R	87,5
Clorofenicol	S	S	S	R	S	S	S	R	25,0
Rifampicina	S	S	S	S	S	S	S	R	12,5
Nitrofurantoína	R	S	S	S	S	I	S	S	25,0
Doxiclina	R	I	R	R	R	I	R	R	100,0
Tetraciclina	R	S	R	R	R	I	R	R	87,5
Sulfazotrin	R	R	R	R	R	S	S	R	75,0
Ciprofloxacina	R	R	R	R	R	S	I	R	87,5
Enrofloxacina	R	R	R	R	R	I	I	R	100,0
Levofloxacina	R	R	R	I	I	S	S	R	75,0
MIC Oxacilina	≤2	-	128	32	>1024	512	-	≤2	
MBC Oxacilina	2	-	248	64	>1024	1024	-	2	
MAR	0.842	0.631	0.631	0.789	0.578	0.631	0.631	0.842	
Biofilme	neg	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	

* CLSI (2008), excluído do índice MAR; R: resistente; S: sensível; I: intermediário; neg: negativo; pos: positivo

Tabela 5. Perfil de resistência antimicrobiana dos *Staphylococcus* spp. Resistentes à Meticilina (MRS) isolados em 2018 de diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	Esterilização - SIG	Secretaria - SIG	Recepção - SIG	MPA II - SIG	Intern.Médica - SIG	Centro de Imagem - SIG	Banheiros - SIG	Copa	Centro Cir. I - CoNS	Pato Clínica - CoNS	Residência - CoNS	Resistência %
Penicilina	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	72,73
Oxacilina	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S	R	45,45
Cefoxitina	R	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	54,54
Vancomicina*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0,00
Amicacina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0,00
Gentamicina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0,00
Eritromicina	R	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	72,72
Clindamicina	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	9,09
MIC Oxacilina	8	4	4	4	8	2	512	8	16	256	4	
MBC Oxacilina	16	64	256	16	64	4	512	16	16	128	4	
MIC Enroflox.	≤0,5	0,31	≤0,5	-	2	1	2,5	-	0,15	32	0,15	
MBC Enroflox.	8	40	≤0,5	-	64	16	32	-	2,5	128	5	
MPC Enroflox.	≤2	-	≤2	-	≤2	≤2	≤2	-	-	64	-	
MPC/MBC Enrofl.	≤2	-	≤2	-	8	16	≤2	-	-	256	-	
MIC Gentamic.	-	0,062	-	-	-	-	0,062	-	0,062	-	0,062	
MBC Gentamic.	-	4	-	-	-	-	2	-	4	-	0,125	
MAR	0,625	0,250	0,250	0,000	0,125	0,375	0,500	0,125	0,500	0,375	0,375	
Biofilme	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	neg	neg	pos	neg	

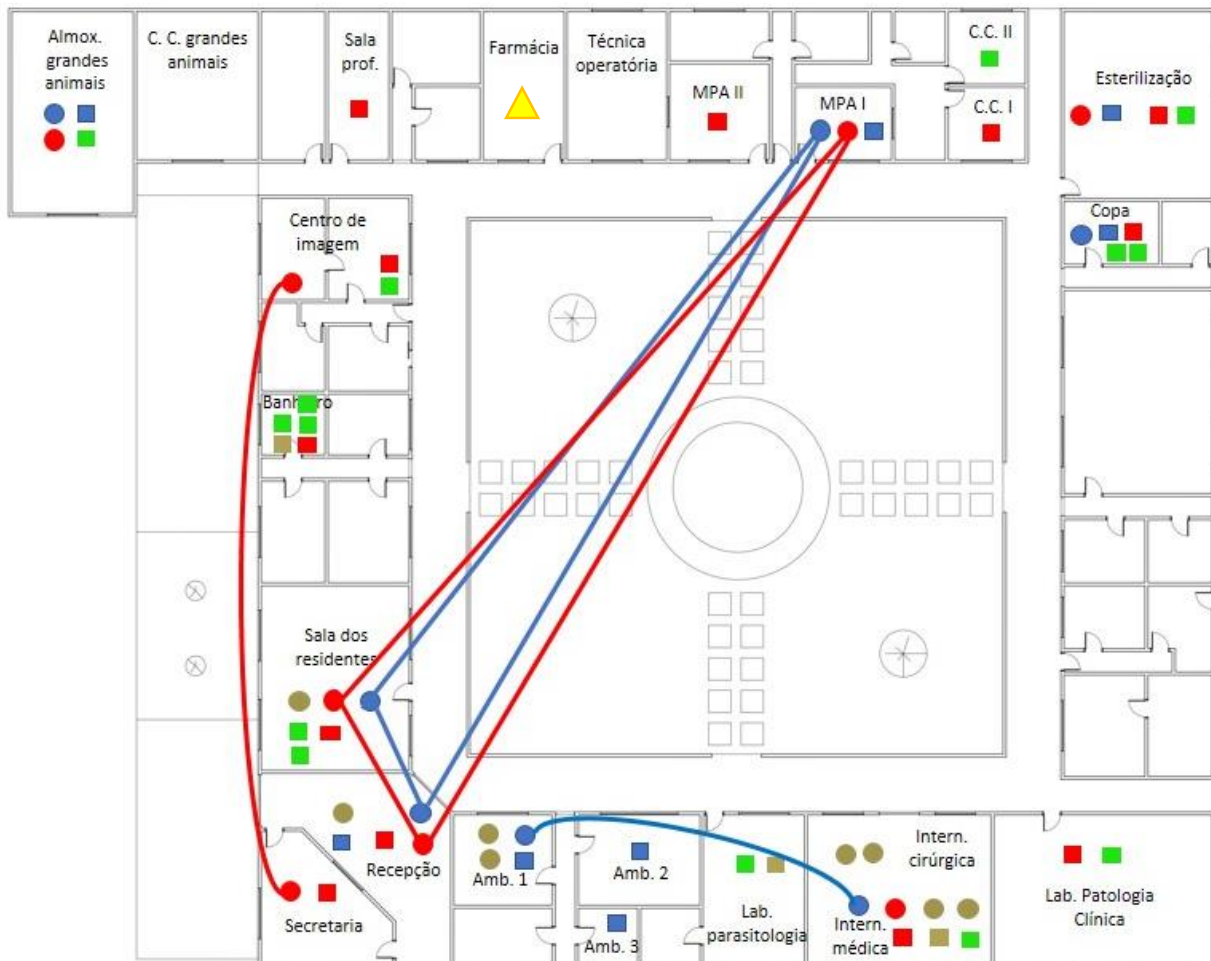
* CLSI (2008), excluído do índice MAR; R: resistente; S: sensível; neg: negativo; pos: positivo

Tabela 6. Perfil de resistência antimicrobiana das bactérias Gram-negativas produtoras de carbapenemase isoladas em 2017 de diferentes ambientes do HVU/UEM

Antimicrobianos testados	<i>Acinetobacter baumannii</i> Int. Cirúrgica	<i>Acinetobacter baumannii</i> Ambulatório I	<i>Acinetobacter baumannii</i> Ambulatório I	<i>Acinetobacter baumannii</i> Int. Cirúrgica	<i>Acinetobacter baumannii</i> Recepção	<i>Burkholderia pseudomallei</i> Int. Médica	<i>Burkholderia cepacia</i> Int. Médica	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Salaresidência
Ticarcilina/Clavulanato	S	S	I	S	S	R	R	I
Piperacilina/Tazobactam	R	I	R	R	I	-	-	R
Ceftazidima	I	R	I	I	S	R	S	I
Cefotaxima	R	R	R	R	R	-	-	-
Ceftriaxona	R	R	R	R	R	-	-	-
Cefepime	R	R	R	R	R	-	-	S
Meropenem	R	R	R	R	R	R	I	R
Imipenem	R	R	R	R	R	-	-	S
Aztreonam	-	-	-	-	-	-	-	R
Polimixina	-	-	-	-	-	-	-	S
Amicacina	R	R	R	R	R	-	-	S
Gentamicina	R	R	R	R	R	-	-	S
Tobramicina	R	R	R	R	R	-	-	S
Tetraciclina	R	R	R	R	R	-	-	-
Doxiciclina	S	S	I	I	S	-	-	-
Sulfazotrin	S	S	S	S	S	-	-	-
Norfloxacina	-	-	-	-	-	-	-	S
Ciprofloxacina	S	S	R	I	S	-	-	S
Levofloxacina	S	S	R	R	S	R	I	R
MAR	0,687	0,687	0,937	0,875	0,625	1,000	0,750	0,428
Biofilme	neg	neg	neg	neg	neg	pos	neg	neg

- Antimicrobianos não testados; neg: negativo; pos: positivo; R: resistente; S: sensível; I: intermediário.

Layout 1. Representação esquemática do HVU/UEM e a identificação dos locais onde foram encontradas bactérias de importância em saúde pública.



Círculos representam as bactérias isoladas em 2017; quadrados representam as bactérias isoladas em 2018. Em azul estão representados os *Enterococcus* spp., em vermelho os *Staphylococcus* spp., verde as ESBLs e em marrom as bactérias produtoras de carbapenemases. As linhas evidenciam-se os locais onde foram encontrados cepas MRS e *Enterococcus* spp. com o mesmo fenótipo de resistência no ano de 2017; triângulo amarelo faz referência ao ambiente (farmácia) onde não foi isolado nenhuma bactéria pesquisada neste trabalho, tanto para o ano de 2017 como para 2018.

10. ANEXO

10.1 NORMAS DE PUBLICAÇÃO DO ARTIGO

Semina: Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Os artigos podem ser submetidos em português ou inglês, mas só serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, se aceitos para publicação, deverão ser **traduzidos para o inglês.**

Todos os artigos, depois de aceites para publicação, devem ser acompanhados de um certificado comprovativo de tradução ou correção (como ficheiro suplementar) O autor principal deve anexar o **documento que comprove** esta tradução ou correção no sistema eletrónico na página de submissão em “ **Docs. Sup .**”

Os manuscritos originais submetidos para avaliação são inicialmente avaliados pelo Comitê Editorial da *Semina: Ciências Agrárias*. Nesta avaliação, serão avaliados os requisitos de qualidade para publicação com a revista, como o escopo do artigo, adequação às normas da revista, qualidade da redação e fundamentação teórica. Adicionalmente, considera-se também a atualização da revisão da literatura, consistência e acurácia da metodologia, a contribuição dos resultados, discussão dos dados observados no estudo, representação de tabelas e figuras e originalidade e consistência das conclusões. Caso o número de manuscritos submetidos exceda a capacidade de avaliação e publicação da *Semina: Ciências Agrárias*, será feita uma comparação entre as submissões, e os trabalhos considerados de maior potencial de contribuição para o conhecimento científico serão encaminhados para assessores ad hoc. Os manuscritos que não são aprovados por esses critérios são arquivados, enquanto os demais manuscritos são submetidos à avaliação de pelo menos dois assessores científicos especialistas na área temática do manuscrito, sem identificação dos autores. A taxa de submissão não será devolvida aos autores que tiverem seus manuscritos arquivados.

Não serão aceites manuscritos quando:

a) O arquivo do artigo principal em anexo contém os nomes dos autores e suas respectivas afiliações.

b) O registro completo de todos os autores não foi adicionado aos metadados durante a submissão; por exemplo Nome completo; Instituição/Afiliação; País; Resumo da Biografia/Título/Função.

c) Texto explicativo da relevância do trabalho (importância e distinção de trabalhos publicados anteriormente), com extensão máxima de 10 linhas, não consta no campo **COMENTÁRIOS AO EDITOR**.

d) A submissão não é acompanhada de documento comprovativo do pagamento da taxa de submissão como ficheiro suplementar nos “ Docs. Sup .” seção.

e) O artigo principal não é acompanhado de arquivos suplementares, incluindo gráficos, figuras, fotos e outros documentos, **EM SUA VERSÃO ORIGINAL** (formatos JPEG, TIFF ou EXCEL).

f) Não constam no manuscrito original as seguintes informações: título, resumo, palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.

g) No campo **COMENTÁRIOS PARA O EDITOR** deve constar a indicação de três possíveis médicos revisores para o manuscrito com **NOME, INSTITUIÇÃO e E-MAIL**.

Restrições por área de assunto:

Para ciência animal, não serão aceitos manuscritos nos seguintes casos:

- **Referências bibliográficas muito antigas** . 70% das referências devem ser dos últimos dez anos. Referências mais antigas (menos de 30%) só serão aceitas na seção Material e Métodos. Não incluir como referências bibliográficas resumos simples ou expandidos e estudos apresentados em anais de eventos como referências. Teses, dissertações e monografias feitas nos últimos três anos só serão aceitas se não tiverem sido publicadas como artigos científicos em periódico.

- Manuscritos que não realizaram análises estatísticas adequadas,
- Conter mais de dez autores.

- Manuscritos baseados em dados derivados do período completo de produção em experimentos avícolas (frangos e poedeiras).

- Manuscritos baseados em levantamentos locais (municipal, regional, matadouro específico, fazenda, etc.) contendo dados de manejo, alimentação, saúde, entre outros, de baixo impacto científico.

Categorias de trabalho

a) Artigos científicos: máximo de 20 páginas, incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas

Apresentação do Trabalho

Artigos originais completos, comunicações e resenhas devem ser redigidos em português ou inglês usando Microsoft Word for Windows, em papel tamanho A4, com linhas numeradas por página, espaçamento 1,5 entre linhas, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, margens de 2 cm em todos os lados, com páginas numeradas no canto superior direito e seguindo as orientações para o número máximo de páginas de acordo com a categoria da obra.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e tabelas devem ser numeradas com algarismos arábicos, devem ser incluídas no final do trabalho imediatamente após as referências bibliográficas e devem ser citadas no texto. Além disso, as figuras devem ser de boa qualidade e devem ser anexadas em seu formato original (JPEG, TIFF, etc.) no Docs Sup na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas que não atendam às seguintes especificações: largura de 8 cm ou 16 cm com altura máxima de 22 cm. Se a figura tiver dimensões maiores, será reduzida durante o processo editorial às dimensões acima mencionadas.

Nota: Figuras (Ex. **Figura 1.** Título) e tabelas (**Tabela 1.** Título) devem ter largura de 8 cm ou 16 cm com altura máxima de 22 cm. Aqueles com maiores dimensões serão reduzidos durante o processo editorial às dimensões acima mencionadas. Para quaisquer tabelas e figuras que não sejam obra original do autor, é obrigatória a citação da fonte consultada. Coloque esta citação abaixo da tabela ou figura e indique usando uma fonte menor (Times New Roman 10).

Ex: “ **Fonte**”: IBGE (2017), ou **Fonte** : IBGE (2017).

Preparação do manuscrito

Os artigos científicos devem relatar resultados de pesquisas originais nas áreas afins, com as seções organizadas da seguinte forma: Título em inglês; Título em português; Três a cinco Destaques; Resumo em inglês com palavras-chave (máximo de seis palavras, em ordem alfabética); Resumo em português com palavras-chave (máximo de seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Materiais e métodos; Resultados e discussão; Conclusões; Reconhecimentos; Fornecedores, se

aplicável; e Referências Bibliográficas. Os títulos devem estar em negrito sem numeração. Se houver necessidade de incluir um subtítulo dentro de uma seção, ele deve ser colocado em itálico, e se houver outros subtópicos a serem incluídos em um subtítulo, estes devem ser numerados com algarismos arábicos.

(Exemplo: **Materiais e Métodos**, *Áreas de estudo*, 1. *Área rural*, 2. *Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outro lugar com o mesmo conteúdo, exceto na forma de Resumo em Eventos Científicos, Notas Introdutórias ou Formato Reduzido.

O trabalho deve ser apresentado na seguinte ordem:

1. Título do trabalho: acompanhado de sua tradução em português, se for o caso.

2. Três ou cinco destaques: são pontos orientados a resultados que proporcionam aos leitores uma visão geral das principais conclusões do seu artigo. Cada "Destaque" deve conter no máximo 85 caracteres incluindo espaçamento.

3. Resumo e Palavras-chave: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 palavras e um máximo de 400 palavras, no mesmo idioma utilizado no texto do artigo, acompanhado de uma tradução em inglês (*Abstract e Keywords*) se o texto não foi escrito em inglês.

4. Introdução: A introdução deve ser concisa e conter apenas a revisão estritamente necessária para introduzir o tema e subsidiar a metodologia e a discussão.

5. Materiais e Métodos: Esta seção pode ser apresentada de forma contínua, descritiva ou com subtítulos para permitir ao leitor compreender e poder repetir a metodologia citada com ou sem o apoio de citações bibliográficas.

6. Resultados e Discussão : *Esta seção* deve ser apresentada de forma clara, com o auxílio de tabelas, gráficos e figuras, para que não levante dúvidas ao leitor quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vista discutidos.

7. Conclusões: Devem ser claras e apresentadas de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

8. Agradecimentos: Pessoas, instituições e empresas que contribuíram com o trabalho devem ser mencionadas ao final do texto, antes da seção Referências Bibliográficas.

Observação:

Notas: Cada nota referente ao corpo do texto deve ser indicada com um símbolo sobrescrito imediatamente após a frase a que se refere e deve ser incluída como nota de rodapé no final da página.

Figuras: Devem ser inseridas ao final do artigo, uma em cada página, após as referências. As figuras consideradas essenciais serão aceitas e deverão ser citadas no texto por sua ordem numérica, em algarismos arábicos. Se alguma ilustração enviada já tiver sido publicada, a fonte e a permissão para publicação devem ser indicadas.

Tabelas: Devem ser inseridas ao final do artigo, uma em cada página, após as referências. As tabelas devem ser acompanhadas de um cabeçalho que permita a compreensão dos dados coletados sem a necessidade de utilizar o corpo do texto para referência.

Quantidades, unidades e símbolos:

a) Os manuscritos devem estar de acordo com os critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais para cada área temática.

b) Usar o Sistema Internacional de Unidades em todo o texto.

c) Use o formato de potência negativa para anotar e apresentar unidades relacionadas: por exemplo, kg ha⁻¹. Não use o símbolo de barra para relacionar unidades: por exemplo, kg/ha.

d) Use um espaço simples entre as unidades: g L⁻¹, não gL⁻¹ ou gL⁻¹.

e) Use a representação de 24 horas com quatro dígitos para as horas e minutos: 09h00, 18h30.

Citações de autores no texto

As Regras da APA utilizam o sistema autor-data para citações indiretas, ou seja, sobrenome do autor, vírgula e ano de publicação. O número da página só é inserido quando há citação direta. Neste caso, o sobrenome do autor citado, vírgula, ano, vírgula seguido de "p". E o número da página

Quando nas citações, os autores estão fora dos parênteses, use sempre "e" (português); "E" (inglês) e "y" (espanhol); separar o penúltimo do último autor citado. O "&" é sempre inserido entre o penúltimo e o último autor quando citado entre parênteses e referências.

Citação:

Uma Obra de Dois Autores: Nomeie ambos os autores na frase-sinal ou entre parênteses cada vez que você citar a obra. Use a palavra "e" entre os nomes dos autores dentro do texto e use o e comercial entre parênteses.

Ex: Os resultados de Wegener e Petty (1994) confirmaram que...
(Wegener & Petty, 1994)

Uma Obra de Três a Cinco Autores: Liste todos os autores na frase de sinalização ou entre parênteses na primeira vez que você citar a fonte. Use a palavra "e" entre os nomes dos autores dentro do texto e use o e comercial entre parênteses.

Ex: Almeida, Parisi e Pereira (1999, p. 379)

ou Almeida, Parisi e Pereira (1999, pp. 372-373)

ou (Almeida, Parisi, & Pereira, 1999, p. 73)

Kernis, Cornell, Sun, Berry e Harlow (1993)

(Kernis, Cornell, Sun, Berry e Harlow, 1993)

Nas citações subsequentes, use apenas o sobrenome do primeiro autor seguido de "et al." na frase-sinal ou entre parênteses (Kernis et al., 1993).

Duas ou mais obras do mesmo autor no mesmo ano - use letras minúsculas (a, b, c) com o ano para ordenar as entradas na lista de referências. Use as letras minúsculas com o ano na citação no texto.

Ex: (Porter, 1999a, 1999b, 1999c)

Autores com o mesmo sobrenome: Para evitar confusão, use as primeiras iniciais com os sobrenomes. (E. Johnson, 2001; L. Johnson, 1998)

Duas ou mais obras do mesmo autor com datas de publicação diferentes. (Ordem cronológica)

Ex: Segundo Porter (1986, 1991, 1999, 2000),

Exemplo de referência:

Todos os autores participantes de um estudo referenciado devem ser mencionados, independentemente do número de participantes.

Artigo:

Berndt, TJ (2002). Qualidade da amizade e desenvolvimento social. *Current Directions in Psychological Science*, 11 , 7-10.

Mais de um autor - *Liste pelos sobrenomes e iniciais. Use o e comercial em vez de "&"*.

Adair, JG, & Vohra, N. (2003). A explosão de conhecimento, referências e citações: a resposta única da psicologia a uma crise. *Psicólogo americano* , 58 (1), 15–23. doi: 10.1037/0003-066X.58.1.15

Pereira, GP, Sequinatto, I., Caten, A., & Mota, M. (2019). Reflectância espectral VIS-NIR para discretização de solos com alto teor de areia. *Semina: Ciências Agrárias*, 40 (1),99-112. doi: 10.5433/16790359.2019v40n1p99

Wegener, DT, & Petty, RE (1994). Gestão do humor em estados afetivos: A hipótese da contingência hedônica. *Journal of Personality and Social Psychology*, 66 , 1034-1048. doi: 10.1037/0022-3514.66.6.1034

Artigo eletrônico:

Santos, CP, & Fernandes, DH von der (2007). A recuperação de serviços e seu efeito na confiança e lealdade do cliente. *RACletrônica*, 1 (3), 35-51. Recuperado de http://anpad.org.br/periodicos/content/frame_base.php?revista=3

Livro

Kashdan, T., & Biswas-Diener, R. (2014). *A vantagem do seu lado escuro* . Nova York, NY: Hudson Street Press.

Capítulo de livro

Serviss, GP (1911). Uma viagem de terror. Em *Um Colombo do espaço* (pp. 17-32). Nova York, NY: Appleton.

Capítulo de livro eletrônico

Shuhua, L. (2007). A Noite do Festival do Meio-Outono. Em JSM Lau & H. Goldblatt (Eds.), *The Columbia Anthology of Modern Chinese Literature* (pp. 95-102). Nova York, NY: Columbia University Press. Recuperado de <https://www.worldcat.org/title/columbia-anthology-of-modern-chinese-literature/oclc/608153696>.

Anais/Processos

Costa, ER, & Boruchovitch, E. (2001). Entendendo as relações entre estratégias de aprendizagem e ansiedade. Anais da XXXI Reunião Anual de Psicologia (p.203). Ribeirão Preto, SP: Sociedade Brasileira de Psicologia.

Uma tese e/ou dissertação impressa

Leão, ME (1998). *Uma análise de redes de cooperação das pequenas e médias empresas do setor das telecomunicações*. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Tese ou Dissertação Eletônica

Hirata, CA (2016). *Microbiologia agrícola, Microorganismos do solo, Fungos micorrízicos, Microorganismos fixadores de nitrogênio, Ecologia microbiana*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil. Retirado de <http://www.bibliotecadigital.uel.br>

Organização como autor

Associação Americana de Psiquiatria. (1988). *DSM-III-R, Manual diagnóstico e estatístico de transtorno mental (3ª ed. rev.)*. Washington, DC: Autor.

Lei

Lei n. 11.638, de 28 de setembro de 2007. Altera e dispositivos revogatórios da Lei n. 6.404, de 15 de dezembro de 1976, e da Lei n. 6.385, 7 de dezembro de 1976, e às sociedades de grande porte, relativas à elaboração e divulgação de financeiras. Recuperado de http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/11638.htm

A exatidão e adequação das referências das obras consultadas e mencionadas no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações, são de inteira responsabilidade dos autores.

