

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO

TESE

Resistência a Antimicrobianos em Solos e
Resíduos de Origem Animal Sob Uma
Perspectiva de Saúde Única

Paula Fernanda Alves Ferreira

2025



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

**RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM SOLOS AGRÍCOLAS E
RESÍDUOS DE ORIGEM ANIMAL SOB UMA PERSPECTIVA DE
SAÚDE ÚNICA**

PAULA FERNANDA ALVES FERREIRA

Sob a Orientação da Professora
Irene da Silva Coelho

e Co-orientação da Professora
Miliane Moreira Soares de Souza

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central/Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F368r

Ferreira, Paula Fernanda Alves, 1996-

Resistência a antimicrobianos em solos e resíduos de origem animal sob uma perspectiva de saúde única / Paula Fernanda Alves Ferreira. - Seropédica, 2025. 144 f. : il.

Orientadora: Irene da Silva Coelho.

Coorientadora: Miliane Moreira Soares de Souza.

Tese (Doutorado). – – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo, 2025.

1. Agronomia. 2. Ciência do solo. 3. Biologia do solo. 4. Microbiologia do solo. 5. Resistência a antibióticos. I. Coelho, Irene da Silva, 1979-, orient. II. de Souza, Miliane Moreira Soares, 1969-, coorient. III. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo. IV. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

E com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - E-26/202.316/2024.

É permitida a cópia parcial ou total desta Tese, desde que seja citada a fonte.



HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO Nº 4 / 2025 - CPGACS (12.28.01.00.00.00.27)

Nº do Protocolo: 23083.015945/2025-15

Seropédica-RJ, 28 de março de 2025.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE AGRONOMIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO

PAULA FERNANDA ALVES FERREIRA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 17/02/2025.

Irene da Silva Coelho. Dra. UFRRJ

(Orientadora)

Everaldo Zonta. Dr. UFRRJ

Shana de Mattos de Oliveira Coelho. Dra. UFRRJ

Ednaldo da Silva Araújo. Dr. Embrapa Agrobiologia

Gustavo Ribeiro Xavier. Dr. Embrapa Agrobiologia

(Assinado digitalmente em 28/03/2025 12:43)

EVERALDO ZONTA
DIRETOR DE INSTITUTO
IA (12.28.01.21)
Matrícula: 2213075

(Assinado digitalmente em 02/04/2025 09:31)

IRENE DA SILVA COELHO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.54)
Matrícula: 1815763

(Assinado digitalmente em 28/03/2025 11:37)

SHANA DE MATTOS DE OLIVEIRA COELHO
COORDENADOR
CORIN (12.28.01.49)
Matrícula: 1722406

(Assinado digitalmente em 10/04/2025 10:27)

GUSTAVO RIBEIRO XAVIER
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 032.488.987-98

(Assinado digitalmente em 10/04/2025 17:24)

EDNALDO DA SILVA ARAÚJO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 750.960.133-91

“Estou entre aqueles que acham que a ciência tem uma grande beleza”

Marie Curie, 1943

AGRADECIMENTOS

A Deus, por Sua infinita bondade, amor incondicional e misericórdia, que me sustentaram ao longo dessa jornada!

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por proporcionar um ensino público, gratuito e de qualidade, que foi essencial para minha formação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do solo, pela oportunidade de aprendizado e pelo conhecimento adquirido ao longo desses anos.

À CAPES e à FAPERJ, pelo apoio financeiro por meio da concessão da bolsa, recurso indispensável que tornou possível minha dedicação exclusiva à realização deste trabalho.

Aos meus queridos pais, Inaldo Ferreira e Maria da Glória, pela sabedoria nos conselhos, pelo incentivo constante, pela paciência diante da minha ausência durante os anos de formação e, principalmente, por sempre acreditarem no meu potencial.

Ao meu amado marido Klayton Ferreira, por ser um companheiro incrível durante todos esses anos.

À professora Irene da Silva Coelho, minha orientadora, pela oportunidade de aprendizado, pelos valiosos ensinamentos, pela confiança depositada em mim, pela disponibilidade incansável e, sobretudo, por ser um exemplo de dedicação e amor à pesquisa.

Às professoras Miliane Moreira Soares de Souza, minha coorientadora, e Shana de Mattos de Oliveira Coelho, por todo apoio, orientação e suporte essencial durante a realização deste projeto.

A todos os integrantes do LABACGEM, pela parceria, colaboração e momentos compartilhados.

E a todas as outras pessoas cujos nomes não estão aqui mencionados, mas que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho.

Muito Obrigada!

BIOGRAFIA

Paula Fernanda Alves Ferreira, filha de Maria da Glória Alves de Mendonça e Adriano Medeiros Ferreira, nasceu em Natal, Rio Grande do Norte, no dia 30 de março de 1996. Concluiu o ensino médio no Colégio São José no ano de 2012 em São Luís, Maranhão. Em 2013, ingressou no Curso de Engenharia Agrônômica na Universidade Estadual do Maranhão. Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica na área de Microbiologia do solo (2014-2018). Participou do programa de Iniciação Científica voluntária na área de Química (2015-2016). Foi monitora na disciplina de Fertilidade do Solo (2017-2018). Graduou-se em 2019. No mesmo ano ingressou no curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo na área de Biologia do Solo na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde obteve o título de mestre em Agronomia (2019-2021). Em 2021 ingressou no doutorado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo na área de Biologia do Solo na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RESUMO GERAL

FERREIRA, Paula Fernanda Alves. **Resistência a antimicrobianos em solos e resíduos de origem animal sob uma perspectiva de saúde única**. 2025. 144f. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2025.

Os ambientes agrícolas desempenham um papel significativo como fonte e disseminação da resistência a antimicrobianos. Além disso, fatores como a presença de metais podem favorecer a persistência da resistência. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar como diferentes sistemas de manejo e a presença de metais pesados influenciam a resistência a antimicrobianos em solos e resíduos de origem animal. Foi realizada uma revisão de literatura em busca de artigos que abordassem a resistência antimicrobiana em ambientes agrícolas, com foco em resíduos animais utilizados como fertilizantes agrícolas, solos e águas utilizadas na irrigação, no Brasil até o ano de 2023. Contudo, o número de artigos que exploram essa temática ainda é bastante limitado, sendo que em todos, foram detectadas bactérias resistentes e genes de resistência a antimicrobianos (ARGs) das mais diversas classes, além de elementos genéticos móveis. Foi realizada a avaliação da caracterização química, da diversidade bacteriana e da abundância dos ARGs em solos de áreas de cultivo intensivo de hortaliças e de florestas. Os diferentes usos do solo influenciaram os atributos químicos, refletindo diferenças na diversidade e estrutura da comunidade microbiana. Dos 18 genes relacionados a resistência a antimicrobianos avaliados, sete foram detectados nos solos estudados. Dentre eles, o gene *oprD* se destacou pela maior abundância, sendo identificado apenas nas áreas de cultivo. Bactérias dos gêneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* e *Proteus*, isoladas durante a compostagem de cama de cavalo e cama de aviário orgânica e convencional, foram avaliadas quanto ao crescimento em diferentes concentrações de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo. A maioria desses gêneros apresentou declínio de crescimento com o aumento dos metais, seguido de retomada do crescimento na maior concentração. Além disso, 102 isolados bacterianos isolados durante a compostagem de cama de cavalo e cama de aviário orgânica e convencional foram avaliadas quanto à resistência a antimicrobianos na presença e ausência dos metais pesados, utilizando o método de difusão em disco. A maioria dos isolados bacterianos apresentou-se sensível aos antimicrobianos na ausência e presença dos metais pesados, mas alguns apresentaram alteração no perfil de sensibilidade ou resistência quando expostos aos metais pesados, especialmente no meio contendo zinco. As bactérias que se tornaram resistentes ao imipenem na presença de sulfato de zinco, foram selecionadas para avaliação quanto à resistência ao meropenem. Dessas, 16 tornaram-se resistentes a meropenem na presença do zinco. Essas cepas resistentes foram testadas como potenciais produtoras de metalobetalactamases (MBLs), resultando em quatro isolados positivos para MBLs, sendo estes pertencentes às espécies *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter kobei* e *Proteus mirabilis*. Baseado no exposto, torna-se evidente que os sistemas de manejo refletem na estrutura da comunidade bacteriana e desempenham um papel crucial na modulação da resistência a antimicrobianos em solos e resíduos de origem animal, destacando a necessidade de mais estudos sobre esse tema. Esses ambientes podem funcionar como reservatórios e fontes de resistência, representando riscos significativos à saúde pública. Estas informações reforçam a importância de abordar esta temática em uma abordagem de Saúde Única que integra a saúde humana, animal e ambiental.

Palavras-chave: Antibiótico. Impactos ambientais. Resistência bacteriana.

GENERAL ABSTRACT

FERREIRA, Paula Fernanda Alves. **Antimicrobial resistance in soils and animal waste from a one health perspective**. 2025. 144p. Thesis (Doctorate in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

Agricultural environments play a significant role as sources and pathways for the dissemination of antimicrobial resistance. Furthermore, factors such as the presence of metals can promote the persistence of resistance. This study aimed to evaluate how different management systems, and the presence of heavy metals influence antimicrobial resistance in soils and animal residues. A literature review was conducted to identify articles addressing antimicrobial resistance in agricultural environments, with a focus on animal residues used as fertilizers, soils, and irrigation water in Brazil up to the year 2023. Although the number of studies exploring this topic is still quite limited, all the reviewed articles reported the detection of resistant bacteria, antimicrobial resistance genes (ARGs) from various classes, and mobile genetic elements. The chemical characterization, bacterial diversity, and abundance of ARGs in soils from areas of intensive vegetable cultivation and forested regions were evaluated. Different land uses affected chemical attributes, leading to variations in the diversity and structure of the microbial community. Among the 18 target genes evaluated, seven were detected in the soils studied, with the *oprD* gene standing out due to its higher abundance, being identified exclusively in cultivated areas. Bacteria belonging to the genera *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* and *Proteus*, isolated during the composting of horse manure and organic and conventional poultry litter, were assessed for growth under varying concentrations of copper sulfate, zinc sulfate, and lead nitrate. Most isolates exhibited reduced growth with increasing concentrations of salts, followed by growth recovery at the highest concentration. Additionally, 102 bacterial isolates from the composting process were evaluated for antimicrobial resistance in the presence and absence of heavy metals using the disk diffusion method. Most bacterial isolates were sensitive to antimicrobials under both conditions; however, some showed alterations in their sensitivity or resistance profiles when exposed to heavy metals, particularly in zinc-containing media. Bacteria that developed resistance to imipenem in the presence of zinc sulfate were subsequently tested for resistance to meropenem. Among these, 16 isolates became resistant to meropenem in the presence of zinc. These resistant strains were further tested for the production of metalloβ-lactamases (MBLs), resulting in four MBLs positive isolates belonging to the species *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter kobei* and *Proteus mirabilis*. Based on these findings, it is evident that management systems influence the structure of the bacterial community and play a critical role in modulating antimicrobial resistance in soils and animal waste. This underscores the need for further studies on this topic. Agricultural environments can act as reservoirs and sources of resistance, posing significant risks to public health. These findings highlight the importance of addressing this issue through a One Health approach that integrates human, animal, and environmental health.

Key words: Antibiotic. Environmental impacts. Bacterial resistance.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM SISTEMAS AGRÍCOLAS NO BRASIL – UMA PREOCUPAÇÃO SOB A PERSPECTIVA DE SAÚDE ÚNICA

Tabela 1. Termos de busca utilizados nos buscadores.....	08
Tabela 2. Resistência fenotípica, genotípica e elementos genéticos móveis detectados em diferentes resíduos animais no Brasil.....	11
Tabela 3. Resistência fenotípica, genotípica e elementos genéticos móveis detectados em solos no Brasil.....	14

CAPÍTULO II – ATRIBUTOS QUÍMICOS, COMUNIDADE BACTERIANA E GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS SÃO AFETADOS PELO USO INTENSIVO DO SOLO EM AGROECOSSISTEMAS DA MATA ATLÂNTICA, SUDESTE DO BRASIL

Tabela 1. Atributos químicos dos solos de áreas de cultivo (C6, C8, C9, C11, C14, C15) e de floresta (F6, F8, F9, F11, F14, F15). Valores expressos com base na média da triplicata.....	31
---	-----------

CAPÍTULO III – RESISTÊNCIA A METAIS PESADOS EM BACTÉRIAS ISOLADAS DE RESÍDUOS ANIMAIS DE DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO

Tabela 1. Distribuição dos gêneros bacterianas isolados de cama de aviário convencional (CAC), cama de aviário orgânica (CAO) e cama de cavalo (CC)....	48
Tabela 2. Percentual de isolados provenientes de cama de cavalo (CC) e camas de aviário convencional (CAC) e orgânica (CAO) que apresentou ausência de crescimento bacteriano em diferentes concentrações de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo.....	52

CAPÍTULO IV – INFLUÊNCIA DE METAIS PESADOS NA RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM BACTÉRIAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS ANIMAIS

Tabela 1. Percentagem de bactérias que se tornaram sensíveis (verde) e resistentes (vermelho) aos antimicrobianos na presença de nitrato de chumbo, sulfato de cobre e sulfato de zinco.....	66
---	-----------

CAPÍTULO V – INFLUÊNCIA DO ZINCO NA RESISTÊNCIA A CARBAPENÊMICOS EM BACTÉRIAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS ANIMAIS

Tabela 1. Percentagem de bactérias que permaneceram sensíveis (SS) e resistentes (RR) e que se tornaram sensíveis (RS) e resistentes (SR) aos antimicrobianos na presença de sulfato de zinco.....	80
Tabela 2. Percentagem de bactérias possivelmente produtoras de metalobactamases...	81

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM SISTEMAS AGRÍCOLAS NO BRASIL – UMA PREOCUPAÇÃO SOB A PERSPECTIVA DE SAÚDE ÚNICA

Figura 1. Esquema gráfico das conexões entre os ambientes agrícolas na disseminação de determinantes de resistência a antimicrobianos.....	07
Figura 2. Quantidade de trabalhos publicados sobre resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil de acordo com a data de publicação.....	09
Figura 3. Número de trabalhos que analisaram resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas por estado brasileiro.....	10

CAPÍTULO II – ATRIBUTOS QUÍMICOS, COMUNIDADE BACTERIANA E GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS SÃO AFETADOS PELO USO INTENSIVO DO SOLO EM AGROECOSSISTEMAS DA MATA ATLÂNTICA, SUDESTE DO BRASIL

Figura 1. Análise de componentes principais das variáveis químicas dos solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta.....	34
Figura 2. Índices de diversidade Chao1 e Shannon dos solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta.....	35
Figura 3. Genêros bacterianos mais abundantes em solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta.....	35
Figura 4. Porcentagem dos gêneros que obtiveram maior quantidade de sequências do gene 16S rRNA em solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta.....	36
Figura 5. Quantificação relativa dos genes nos solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta.....	36
Figura 6. Análise de coordenadas principais com as sequências de 16S rRNA e variáveis químicas dos solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta.....	37
Figura 7. (A) Correlação entre as variáveis químicas dos solos e os genes de resistência a antimicrobianos e, (B) Correlação positiva entre o gene oprD e o cobre.....	37

CAPÍTULO III – RESISTÊNCIA A METAIS PESADOS EM BACTÉRIAS ISOLADAS DE RESÍDUOS ANIMAIS DE DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO

Figura 1. Curva de crescimento bacteriano de isolados provenientes de cama de cavalo (CC) e camas de aviário convencional (CAC) e orgânica (CAO) em diferentes concentrações de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo.....	51
Figura 2. Percentagem de isolados bacterianos provenientes de cama de cavalo (CC) e camas de aviário convencional (CAC) e orgânica (CAO) que apresentaram inibição de crescimento por concentração de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo.....	53

CAPÍTULO IV – INFLUÊNCIA DE METAIS PESADOS NA RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM BACTÉRIAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS ANIMAIS

Figura 1. Percentagem de bactérias que permaneceram sensíveis (SS) e resistentes (RR) e que se tornaram sensíveis (RS) e resistentes (SR) aos antimicrobianos na presença de nitrato de chumbo, sulfato de cobre e sulfato de zinco.....	65
---	-----------

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2.	CAPÍTULO I – RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM SISTEMAS AGRÍCOLAS NO BRASIL – UMA PREOCUPAÇÃO SOB A PERSPECTIVA DE SAÚDE ÚNICA.....	03
2.1	RESUMO.....	04
2.2	ABSTRACT.....	05
2.3	INTRODUÇÃO.....	06
2.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	08
2.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	09
2.5.1	Resíduos Animais.....	10
2.5.2	Solos.....	13
2.5.3	Água de Irrigação.....	16
2.6	DISCUSSÃO.....	17
2.7	CONCLUSÕES.....	24
3.	CAPÍTULO II – ATRIBUTOS QUÍMICOS, COMUNIDADE BACTERIANA E GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS SÃO AFETADOS PELO USO INTENSIVO DO SOLO EM AGROECOSSISTEMAS DA MATA ATLÂNTICA, SUDESTE DO BRASIL.....	25
3.1	RESUMO.....	26
3.2	ABSTRACT.....	27
3.3	INTRODUÇÃO.....	28
3.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.4.1	Caracterização da Área de Estudo e Amostragem.....	30
3.4.2	Avaliação dos Atributos Químicos dos Solos.....	30
3.4.3	Extração de DNA Total do Solo, Preparo da Biblioteca e Sequenciamento do Gene 16S rRNA.....	32
3.4.4	High-Throughput-Quantitative Polymerase Chain Reaction.....	32
3.4.5	Análise Estatística.....	33
3.5	RESULTADOS.....	34
3.5.1	Fertilidade do Solo e Metais Pesados.....	34
3.5.2	Diversidade e Composição das Comunidades Bacterianas.....	34
3.5.3	Genes de Resistência a Antimicrobianos.....	36
3.6	DISCUSSÃO.....	38
3.7	CONCLUSÃO.....	42
4.	CAPÍTULO III – RESISTÊNCIA A METAIS PESADOS EM BACTÉRIAS ISOLADAS DE RESÍDUOS ANIMAIS DE DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO.....	43
4.1	RESUMO.....	44
4.2	ABSTRACT.....	45
4.3	INTRODUÇÃO.....	46
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	48
4.4.1	Origem e Caracterização de Bactérias.....	48
4.4.2	Avaliação da Resistência a Metais Pesados <i>in vitro</i>	48
4.5	RESULTADOS.....	50

4.6	DISCUSSÃO.....	54
4.7	CONCLUSÕES.....	57
5.	CAPÍTULO IV – INFLUÊNCIA DE METAIS PESADOS NA RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM BACTÉRIAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS ANIMAIS.....	58
5.1	RESUMO.....	59
5.2	ABSTRACT.....	60
5.3	INTRODUÇÃO.....	61
5.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	63
5.4.1	Origem e Caracterização de Bactérias.....	63
5.4.2	Teste de Difusão em Meio Sólido.....	63
5.5	RESULTADOS.....	64
5.6	DISCUSSÃO.....	69
5.7	CONCLUSÃO.....	72
6.	CAPÍTULO V – INFLUÊNCIA DO ZINCO NA RESISTÊNCIA A CARBAPENÊMICOS EM BACTÉRIAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS ANIMAIS.....	73
6.1	RESUMO.....	74
6.2	ABSTRACT.....	75
6.3	INTRODUÇÃO.....	76
6.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	78
6.4.1	Origem das Bactérias.....	78
6.4.2	Teste de Difusão em Meio Sólido.....	78
6.4.3	Deteção Fenotípica da Produção de Metalobetalactamases (MBLs).....	78
6.5	RESULTADOS.....	80
6.6	DISCUSSÃO.....	82
6.7	CONCLUSÃO.....	85
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
9.	APÊNDICE.....	117

1. INTRODUÇÃO GERAL

A resistência antimicrobiana ocorre quando os microrganismos sofrem alterações ao longo do tempo e deixam de responder aos antimicrobianos que, antes eram eficazes na sua eliminação ou inibição de seu crescimento. Essa adaptação compromete a eficácia do tratamento de um número crescente de infecções, resultando em um aumento significativo das taxas de morbidade e mortalidade e, nos custos de tratamento. Dada a sua gravidade e impacto, a resistência antimicrobiana é considerada um dos dez maiores problemas de saúde pública global.

Tal fenômeno é uma resposta evolutiva natural, em que bactérias produtoras de substâncias antibióticas desenvolvem mecanismos para se protegerem contra os próprios antibióticos que produzem, evitando a autointoxicação e a morte. Como os solos abrigam uma elevada diversidade de microrganismos, eles apresentam um “resistoma natural” - termo utilizado para descrever o conjunto diversificado de determinantes de resistência a antimicrobianos presentes no ambiente. No entanto, o resistoma dos solos pode ser modificado por meio de ações antrópicas, como o manejo intensivo do solo, o uso de resíduos animais sem tratamento prévio como fertilizantes orgânicos, a disposição inadequada de resíduos antimicrobianos no meio ambiente e a utilização de água contaminada na irrigação agrícola. Todos esses fatores podem afetar a estrutura da comunidade microbiana presente nesses solos e, conseqüentemente, sua funcionalidade, além de contribuir para o aumento e/ou modificação, persistência e disseminação de determinantes de resistência a antimicrobianos.

Em ambientes agrícolas, um dos principais fatores que podem favorecer a persistência da resistência a antimicrobianos nos solos é a presença de metais pesados. Esses metais estão presentes nos solos de forma natural, mas seu acúmulo pode ser ocasionado a partir do uso excessivo e recorrente de insumos agrícolas, como pesticidas, calcários, fertilizantes minerais, fertilizantes orgânicos e outros resíduos aplicados no solo com o intuito de aumentar a produtividade agrícola. Além disso, alguns metais, como o zinco e cobre, são utilizados como promotor de crescimento, sendo adicionados a ração animal e, como são pouco absorvidos pelo organismo animal são facilmente expelidos, podendo contaminar o solo e a água por meio da eliminação direta das excretas do animal ou por meio da utilização do resíduo animal como fertilizante. Dessa forma, o aumento dos níveis de metais pesados nos solos e a exposição da microbiota do solo a esses metais pesados pode resultar em seleção indireta de bactérias resistentes a antimicrobianos e promover a manutenção e propagação de genes de resistência. Isso ocorre porque ficam sujeitas a co-seleção da resistência a antimicrobianos e metais pesados.

O ambiente agrícola é uma fonte importante de determinantes de resistência a antimicrobianos que podem ser transferidos para bactérias comensais e patogênicas de humanos e animais. Neste contexto, ressalta-se a importância de estudos que contribuam para uma maior compreensão da resistência aos antimicrobianos e dos fatores que podem contribuir para sua persistência, especialmente em uma abordagem de Saúde Única, que é baseada na ideia de que a saúde humana está intimamente ligada à saúde animal e que ambos estão, por sua vez, ligados ao meio ambiente.

Partindo da hipótese de que: i) sistemas agrícolas atuam como reservatórios e vias de disseminação de determinantes de resistência; ii) sistemas de manejo intensivo do solo modificam a comunidade microbiana e o resistoma do solo; iii) bactérias provenientes de resíduos de origem animal possuem resistência a metais pesados; e iv) a presença de metais pesados nos solos e nos resíduos animais contribui para a persistência de determinantes de resistência a antimicrobianos, o objetivo geral do estudo foi avaliar a influência do sistema de

manejo e dos metais pesados na resistência a antimicrobianos em solos e resíduos de origem animal sob uma perspectiva de Saúde Única.

Diante disso, a presente tese foi dividida em capítulos, identificados a seguir: Capítulo I/Revisão de literatura - Resistência a antimicrobianos em sistemas agrícolas no Brasil – uma preocupação sob a perspectiva de Saúde Única; Capítulo II - Atributos químicos, comunidade bacteriana e genes de resistência a antibióticos são afetados pelo uso intensivo do solo em agroecossistemas da Mata Atlântica, Sudeste do Brasil; Capítulo III - Resistência a metais pesados em bactérias isoladas de resíduos animais de diferentes sistemas de produção; Capítulo IV – Influência de metais pesados na resistência a antimicrobianos em bactérias provenientes de resíduos animais; e, Capítulo V - Influência do zinco na resistência a carbapenêmicos em bactérias provenientes de resíduos animais.

2. CAPÍTULO I

RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM SISTEMAS AGRÍCOLAS NO BRASIL – UMA PREOCUPAÇÃO SOB A PERSPECTIVA DE SAÚDE ÚNICA

Documento aceito para publicação na “Revista Brasileira de Ciência do Solo”

FERREIRA, P. F. A.; BERTHOLOTO, D. M.; NUNES, J. F.; SANT’ANNA, G. S. L.; PATRICIO, T. C. C.; XAVIER, J. F.; SOUZA, H. D. F.; COELHO, S. M. O.; SOUZA, M. M. S.; COELHO, I. S. Resistência a antimicrobianos em sistemas agrícolas no Brasil – uma preocupação sob a perspectiva de Saúde Única.

2.1 RESUMO

A resistência a antimicrobianos é uma preocupação de saúde pública global que exige uma abordagem integrada entre a saúde humana, animal e ambiental. Ambientes agrícolas, como solos, resíduos animais e água para irrigação, desempenham um papel crucial na dinâmica da resistência a antimicrobianos, pois atuam como reservatórios e vias de disseminação de determinantes de resistência. Apesar disso, esses ambientes agrícolas ainda são frequentemente subestimados e negligenciados em muitas pesquisas. Nesse sentido, o objetivo desta revisão de literatura é realizar um levantamento bibliográfico sobre a resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil, visando elucidar o estado atual do conhecimento sobre essa problemática no país. Para isso, foi realizada uma busca de caráter qualitativo nas bases Google Scholar, Google, ISI Web of Knowledge e Web of Science, nos idiomas português, inglês e espanhol, de artigos que abordassem a resistência antimicrobiana em ambientes agrícolas no Brasil até o ano de 2023. Diferentes termos de busca foram utilizados, e os achados foram categorizados conforme questões de pesquisa. Foi encontrado um total de 36 artigos, sendo 20 focados na resistência antimicrobiana em resíduos animais provenientes de sistemas de produção, 13 abordando a temática em solos agrícolas, dois explorando ambos os ambientes e apenas um tratando da resistência antimicrobiana associada à água de irrigação em ambientes agrícolas. Em todos os estudos foram detectadas bactérias resistentes e genes de resistência a antimicrobianos das mais diversas classes, além de elementos genéticos móveis. Contudo, o número de artigos que exploram essa temática em ambientes agrícolas do Brasil – começando pelos resíduos animais, seguidos pelos solos e, em menor número, pela água de irrigação – ainda é bastante limitado, revelando lacunas significativas a serem preenchidas. Portanto, é essencial a realização de mais estudos sobre resistência a antimicrobianos nesses ambientes a fim de elucidar seu papel como reservatório e fonte de resistência a antimicrobianos, bem como avaliar os riscos para a saúde pública.

Palavras-chave: Antibióticos. Irrigação. Resíduos animais. Resistência bacteriana. Solos.

2.2 ABSTRACT

Antimicrobial resistance is a global public health concern that requires an integrated approach involving human, animal, and environmental health. Agricultural environments, such as soils, animal waste, and irrigation water, play a crucial role in the dynamics of antimicrobial resistance, acting as reservoirs and pathways for the dissemination of resistance determinants. Despite this, these agricultural environments are often underestimated and neglected in many studies. In this context, the objective of this literature review is to conduct a bibliographic survey on antimicrobial resistance in agricultural environments in Brazil, aiming to elucidate the current state of knowledge on this issue in the country. To achieve this, a qualitative search was conducted in the Google Scholar, Google, ISI Web of Knowledge, and Web of Science databases, in Portuguese, English, and Spanish, for articles addressing antimicrobial resistance in agricultural environments in Brazil up to the year 2023. Different search terms were used, and the findings were categorized according to research questions. A total of 36 articles were found, 20 of which focused on antimicrobial resistance in animal waste from production systems, 13 addressed the issue in agricultural soils, two explored both environments, and only one addressed antimicrobial resistance associated with irrigation water in agricultural environments. Resistant bacteria and antimicrobial resistance genes from a wide range of classes were detected in all studies, along with mobile genetic elements. However, the number of articles exploring this issue in agricultural environments in Brazil – starting with animal waste, followed by soils, and to a lesser extent, irrigation water – is still quite limited, revealing significant gaps to be filled. Therefore, further studies on antimicrobial resistance in these environments are essential to elucidate their role as a reservoir and source of antimicrobial resistance, as well as to assess the risks to public health.

Key words: Antibiotics. Irrigation. Animal waste. Bacterial resistance. Soils.

2.3 INTRODUÇÃO

A descoberta dos antimicrobianos foi um grande marco na Medicina Moderna, reduzindo significativamente as taxas de mortalidade por infecções bacterianas desde sua comercialização em 1941 (DODDS, 2017). Entretanto, seu uso em larga escala em ambiente hospitalar, pela comunidade e na produção agropecuária, culminou no atual cenário de resistência antimicrobiana: uma crise na saúde pública devido ao desenvolvimento e persistência de bactérias resistentes em diversos ambientes (MCEWEN; COLLIGNON, 2018).

Em 2016, o estudo do economista O'Neil despertou um alerta sobre as perspectivas futuras para a problemática da resistência antimicrobiana. Este estudo demonstrou que, se medidas de contenção quanto ao uso e descarte de antimicrobianos não forem tomadas, em 2050 o panorama mundial será de, em média, 10 milhões de mortes por ano devido ao aumento de infecções resistentes, além de um custo de 100 trilhões de dólares em saúde pública. Nesse cenário, países em desenvolvimento, como o Brasil, serão os mais impactados. (O'NEILL, 2016).

Globalmente, o Brasil encontra-se entre os principais produtores de proteína animal (ABPA, 2023) e, o setor agropecuário é responsável por uma grande parte do consumo de antimicrobianos no mundo (TISEO et al., 2020; MULCHANDANI et al., 2023). Esses medicamentos são amplamente utilizados não apenas para tratar doenças infecciosas, mas também para prevenir infecções e melhorar o desempenho animal (BOKMA-BAKKER et al., 2014; CHATTOPADHYAY, 2014). Contudo, o aumento da produção animal resulta na geração de grandes quantidades de resíduos que podem conter microrganismos patogênicos e determinantes de resistência a antimicrobianos, como bactérias resistentes, genes de resistência e antimicrobianos residuais (HEUER et al., 2011). Esses resíduos, amplamente utilizados como fertilizante orgânico, podem modificar a diversidade bacteriana dos solos e dos reservatórios ambientais de genes de resistência a antimicrobianos, facilitando a transferência desses genes para bactérias comensais e patógenos de humanos e animais (REULAND et al., 2014; VELDMAN et al., 2014; BLAAK et al., 2015; HOELZER et al., 2017).

Ambientes agrícolas, como solos, resíduos animais e águas de irrigação, desempenham um papel fundamental na disseminação da resistência a antimicrobianos. O solo, por exemplo, abriga um “resistoma natural”, termo utilizado para descrever o conjunto diversificado de determinantes de resistência a antimicrobianos presentes no ambiente (ZHANG et al., 2021; BERTHOLOTO, 2022), no entanto, práticas agrícolas inadequadas podem intensificar a disseminação de determinantes de resistência. Já a água utilizada para irrigação, frequentemente contaminada por resíduos agropecuários, é importante via de transporte desses microrganismos resistentes (LOPES et al., 2022).

Assim, a resistência antimicrobiana ocasiona diversos impactos no ambiente a partir da relação indissociável entre humanos, animais e ecossistemas. Nesse contexto, a abordagem de Saúde Única (Figura 1) se torna essencial para propor soluções eficazes e sustentáveis. A Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Ministério da Saúde (MS), por meio de planos de ação, destacam a importância de estratégias voltadas ao monitoramento e controle da resistência antimicrobiana, especialmente no setor agropecuário (WHO, 2015; MS, 2018). Essas iniciativas reforçam a necessidade de compreender melhor os impactos das práticas agrícolas na resistência antimicrobiana.

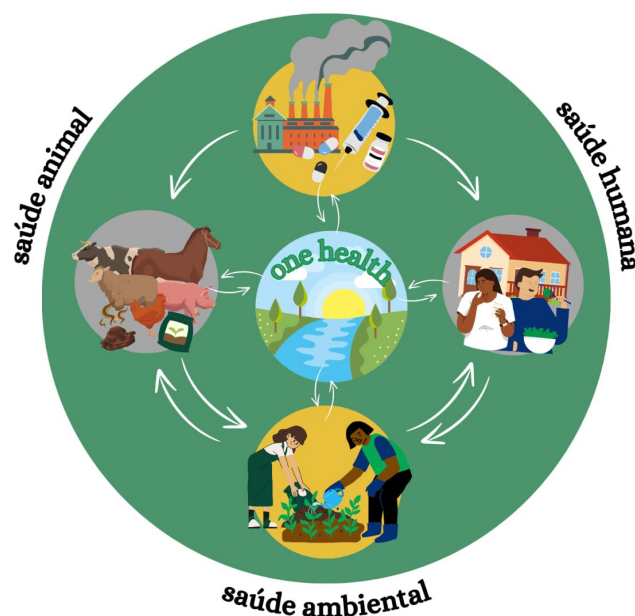


Figura 1. Esquema gráfico das conexões entre os ambientes agrícolas na disseminação de determinantes de resistência a antimicrobianos.

Considerando que a resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil é um tema ainda pouco investigado, com escassez de estudos específicos, o que dificulta a compreensão plena da magnitude e dos fatores envolvidos nesse problema no contexto nacional, o objetivo desta revisão de literatura é realizar um levantamento bibliográfico sobre a resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil, visando elucidar o estado atual do conhecimento sobre essa problemática no País.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa, de caráter qualitativo, foi realizada no período de fevereiro a dezembro de 2023, com o objetivo de identificar artigos relacionados à resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil. Para garantir a abrangência e a relevância dos artigos selecionados, foram utilizados termos de busca específicos, conforme descrito na Tabela 1, nos buscadores Google Scholar, Google, ISI Web of Knowledge e Web of Science

Tabela 1. Termos de busca utilizados nos buscadores

Search terms #1	AND	Search terms #2	AND	Search term #3
"antibiotic resistance" OR		"animal waste" OR		"Brazil"
"antimicrobial resistance" OR		"bovine waste" OR		
"beta-lactam resistance" OR		"brazilian soil" OR		
"colistine resistance" OR		"broiler litter" OR		
"fluroquinolone resistance" OR		"cattle manure" OR		
"resistance gene" OR		"fertilizer" OR		
"resistome" OR		"irrigation" OR		
"sulfonamide resistance" OR		"organic fertilizer" OR		
"tetracycline resistance" OR		"poultry litter" OR		
		"poultry waste" OR		
		"residues" OR		
		"reused water" OR		
		"soil" OR		
		"swine manure"		
		"water irrigation" OR		

Foram incluídos na análise apenas artigos originais, revisados por pares, publicados nos idiomas português, espanhol e inglês, com data de publicação até dezembro de 2023. Para a seleção, também foram adotados critérios de exclusão, sendo estes (i) artigos em duplicidade, (ii) revisões de literatura ou (iii) indisponíveis para leitura integral.

Após seleção, os dados de cada artigo foram extraídos de maneira sistemática. A partir dessa extração, as informações foram tabuladas e analisadas com base nos seguintes parâmetros: identificação numérica de cada artigo, título, periódico, ano de publicação, ambiente agrícola (resíduos animais, solo e/ou água de irrigação), especificações sobre a origem e ambiente, região do Brasil em que a pesquisa foi realizada, as evidências de resistência fenotípica e genotípica aos antimicrobianos, a presença de elementos genéticos móveis avaliados e detectados, e a citação da referência (Apêndice A/Tabela S1).

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 36 artigos referentes a resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil (Apêndice A/Tabela S1). Desses, 16% (6/36) foram publicados entre 1986 e 2013, 42% (15/36) entre 2014 e 2019, e 42% (15/36) entre 2021 e o segundo semestre de 2023, revelando um aumento nas publicações sobre o tema ao longo dos anos (Figura 2). No período de 1987 a 2005, não foram publicados trabalhos sobre resistência antimicrobiana nesses ambientes no Brasil.

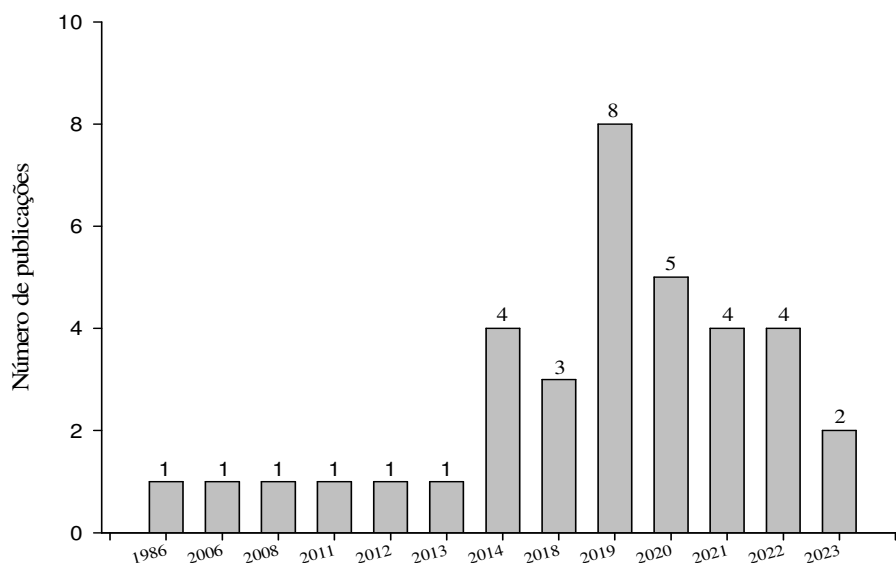


Figura 2. Quantidade de trabalhos publicados sobre resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil de acordo com a data de publicação.

A maior parte das pesquisas foi conduzida na região Sudeste (67%, 24/36), sendo 13, 7 e 3 artigos referentes aos estados de São Paulo (artigo nº 2, 5, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 19, 21, 25, 26 e 31), Rio de Janeiro (artigo nº 4, 11, 12, 33, 34, 35 e 36) e Minas Gerais (artigo nº 1, 7 e 18), respectivamente, e apenas um artigo menciona resultados referentes aos estados de São Paulo e Minas Gerais, concomitantemente (artigo nº 32) (Figura 3 e Apêndice A/Tabela S1). Em seguida destaca-se a região Sul (17%, 6/36), com os estados de Santa Catarina (3 artigos, nº 8, 20 e 22), Rio Grande do Sul (1 artigo, nº 24) e Paraná (1 artigo, nº 15). Um artigo menciona resultados referentes ao Paraná e Rio Grande do Sul de forma concomitante (artigo nº 6). Apenas um artigo aborda esta questão em ambientes agrícolas na região Centro-oeste (3%, 1/36), referente ao estado de Goiás (artigo nº 3). Três artigos mencionam que as pesquisas foram realizadas em diferentes regiões do Brasil, sendo um nos estados do Mato Grosso e Pará; um nos estados do Paraná, Piauí, Rio Grande do Sul e São Paulo e, outro nos estados de Amazonas, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais e Roraima (artigo nº 23, 27 e 29, respectivamente). Dois trabalhos não informaram a região e os estados em que foram desenvolvidos (artigo nº 28 e 30) (Apêndice A/Tabela S1).

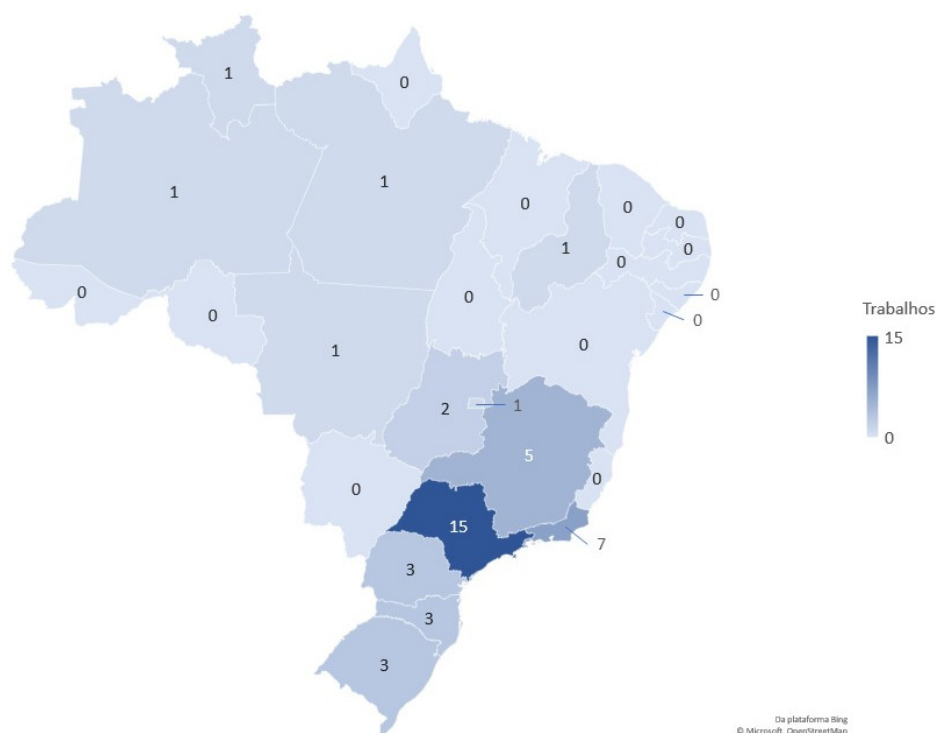


Figura 3. Número de trabalhos que analisaram resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas por estado brasileiro.

Dentre os 36 artigos, 20 abordaram a resistência antimicrobiana em resíduos animais, 13 abordam tal temática em solos agrícolas e de floresta, dois abordaram a resistência antimicrobiana tanto nos resíduos animais como nos solos agrícolas e um abordou a resistência antimicrobiana associada a água de irrigação em ambiente agrícola.

2.5.1 Resíduos Animais

Um total de 22 artigos referentes à resistência antimicrobiana em resíduos animais no Brasil foi encontrado na literatura. Destes artigos, seis são relacionados a resíduos avícolas (artigo nº 1, 2, 6, 11, 15 e 16), seis de resíduos bovinos (artigo nº 7, 10, 14, 17, 18 e 19), quatro a resíduos suínos (artigo nº 8, 20, 21 e 22), quatro a resíduos ovinos (artigo nº 3, 5, 9 e 13) e dois relacionados a resíduos de diferentes animais (avícola/equino (artigo nº 4), avícola/bovino (artigo nº 12) (Tabela 2 e Apêndice A/Tabela S1). Em 82% (18/22) dos artigos, a resistência fenotípica aos antimicrobianos foi avaliada, sendo detectada resistência as seguintes classes de antimicrobianos: aminocumarina, aminoglicosídeos, anfenicóis, betalactâmicos, diaminopirimidínicos, fosfomicinas, glicopeptídeos, lincosamidas, macrolídeos, macrocíclico, nitrofuranos, polipeptídios, quinolonas, sulfonamidas e tetraciclina (Tabela 2). A resistência aos antimicrobianos: danofloxacina (quinolona), minociclina (tetraciclina), vancomicina (glicopeptídeo), clindamicina (lincosamidas) e, ticarciclina-ácido clavulânico e ertapenem (betalactâmicos), foi avaliada e não detectada.

As classes de antimicrobianos mais avaliadas (>10 artigos) e que apresentaram maior índice de resistência bacteriana foram os betalactâmicos (100%, 15/15), tetraciclina (91%, 10/11), aminoglicosídeos (85%, 11/13), sulfonamida (85%, 11/13) e quinolonas (81%, 13/16). Dentre os menos avaliados (<10 artigos), a resistência as classes aminocumarina, diaminopirimidínicos, fosfomicina, macrolídeo, não esteroide e polipeptídeo foram as mais abundantes, com 100% de detecção nos artigos avaliados, seguido das classes anfenicóis (87%,

7/8), nitrofuranos (50%, 2/4), macrocíclico (50%, 1/2), lincosamidas (50%, 1/2) e, por fim, a classe dos glicopeptídeos que não foi detectada em nenhum dos artigos avaliados (0%, 0/2).

Tabela 2. Resistência fenotípica, genotípica e elementos genéticos móveis detectados em diferentes resíduos animais no Brasil (continua)

Nº de trabalhos (n)	Resistência fenotípica a antimicrobianos	Resistência genotípica a antimicrobianos	Elementos genéticos móveis
Frango (8)	Aminoglicosídeos: estreptomicina, gentamicina; Anfenicóis: cloranfenicol; Betalactâmicos: amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, aztreonam, cefaclor, cefalotina, cefazolina, cefepime, ceftazidima, cefotaxima, ceftaxitina, imipenem; Fosfomicinas: fosfomicina-trometamol; Macrolídeos: tilosina; Nitrofuranos: nitrofurantoína; Quinolonas: ácido nalidíxico, ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina; Sulfonamidas: sulfametaxazol-trimetropim; Tetraciclina: tetraciclina.	Betalactâmicos: <i>bla_{CTT}</i> , <i>bla_{CTX-M-Gp1}</i> , <i>bla_{CTX-M-Gp2}</i> , <i>bla_{CTX-M-Gp8}</i> ; Colistina: <i>mcr-1</i> ; Fosfomicina: <i>fosA3</i> ; Quinolonas: <i>qnrA</i> , <i>qnrB</i> , <i>qnrS</i> ; Sulfonamidas: <i>sul1</i> , <i>sul2</i> ; Tetraciclina: <i>tetB</i> .	*
Bovino (7)	Aminoglicosídeos: amicacina, canamicina, estreptomicina, gentamicina; Anfenicóis: cloranfenicol; Betalactâmicos: amoxicilina, ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefalotina, cefepime, ceftriaxone, meropenem, oxacilina, penicilina G, piperaciclina-tazobactam; Macrocíclico: rifampicina; Macrolídeos: eritromicina; Quinolonas: ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina; Sulfonamidas: sulfametaxazol-trimetropim; Tetraciclina: tetraciclina.	Aminoglicosídeos: <i>aac(3')-Ia</i> , <i>aadA</i> , <i>aphA2</i> , <i>aph(3')-Ia</i> ; Betalactâmicos: <i>bla_{CMY}</i> , <i>bla_{CTX-M-Gp2}</i> , <i>bla_{SHV}</i> , <i>bla_{TEM}</i> , <i>mecA</i> ; Fenicolis: <i>cmlA</i> , <i>floR</i> ; Glicopeptídeos: <i>vanA</i> , <i>vanC1</i> , <i>vanC2/3</i> ; Macrolídeos: <i>ermB</i> , <i>mefAE</i> ; Quinolonas: <i>qnrA</i> ; <i>qnrB</i> ; <i>qnrS</i> , <i>oqxA</i> , <i>oqxB</i> , <i>qepA</i> . Sulfonamidas: <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>sul3</i> ; Tetraciclina: <i>tetA</i> , <i>tetB</i> , <i>tetC</i> .	Plasmídeo: <i>ColE-like</i> , <i>IncF</i> , <i>IncFIA</i> , <i>IncFIB</i> , <i>IncHI1</i> , <i>IncI1</i> , <i>IncK</i> , <i>IncP</i> , <i>IncR</i> , <i>IncY</i> , <i>IncU</i> ; Integron: <i>IntI1</i> .
Equino (1)	Betalactâmicos: amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, aztreonam, cefepime, ceftazidima, ceftaxitina, imipenem; Quinolonas: ciprofloxacina; Sulfonamidas: sulfametaxazol-trimetropim.	*	*
Ovino (4)	Aminocumarinase: novobiocina; Aminoglicosídeos: amicacina, estreptomicina, gentamicina, neomicina, tobramicina; Anfenicóis: cloranfenicol; Betalactâmicos: amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefaclor, cefalotina, cefazolina, cefepime, cefotaxima, ceftaxitina,	Aminoglicosídeos: <i>aac(6')-Ib</i> ; Anfenicóis: <i>cmlA</i> ; Betalactâmicos: <i>bla_{CMY}</i> , <i>bla_{CTX-M-Gp1}</i> , <i>bla_{CTX-M-Gp9}</i> , <i>bla_{SHV}</i> ; Quinolonas: <i>qnrB</i> , <i>qnrS</i> , <i>oqxA</i> , <i>oqxB</i> ; Sulfonamidas: <i>sul1</i> , <i>sul2</i> ; Tetraciclina: <i>tetA</i> , <i>tetB</i> , <i>tetC</i> .	Plasmídeo: <i>ColE-like</i> , <i>IncF</i> , <i>IncFIA</i> , <i>IncFIB</i> , <i>IncHI1</i> , <i>IncI1</i> , <i>IncK</i> , <i>IncF_{repB}</i> .

Tabela 2. Continuação

	ceftriaxone, cefurozima, penicilina G; Diaminopirimidínicos: trimetropim; Lincosamidas: lincomicina; Macrolídeos: eritromicina; Quinolonas: ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina; lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina; Sulfonamidas: sulfametaxazol- trimetropim, sulfonamida; Tetraciclina: doxiciclina, tetraciclina.	
Suíno (4)	Aminoglicosídeos: amicacina, gentamicina, neomicina; Anfenicóis: cloranfenicol; Betalactâmicos: amoxilina-ácido clavulânico, ampicilina, cefalexina, ceftiofur, penicilina G; Diaminopirimidínicos: trimetropim; Não esteroide: fluorfenicol; Poli-peptídeos: colistina; Quinolonas: enrofloxacina, norfloxacina; Sulfonamidas: sulfametaxazol- trimetropim; Tetraciclina: tetraciclina.	Betalactâmicos: <i>ampC</i> , <i>blaCTY-M2</i> , <i>blaCTX-M-Gp1</i> , <i>blaGES</i> , <i>blaOXA-1-like</i> , <i>blaSHV</i> , <i>blaTEM</i> , <i>blaVEB</i> ; Quinolonas: <i>qnrS</i> .

* indica que determinado parâmetro não foi avaliado em nenhum artigo referente a determinado resíduos animal.

Dentre a classe dos betalactâmicos, a resistência a ampicilina foi detectada em maior proporção (71%, 10/14), principalmente nos artigos que analisaram resíduos ovinos. Em relação às quinolonas, a resistência à ciprofloxacina foi verificada em 69% (9/13) dos artigos, com maior representatividade nos resíduos avícolas. A resistência a gentamicina, pertencente à classe dos aminoglicosídeos, foi detectada em 82% (9/11) dos artigos. Dentre as sulfonamidas e tetraciclina, a resistência ao sulfametaxazol-trimetropim e tetraciclina, respectivamente, foram representativas em 100% artigos avaliados (10/10 e 9/9, respectivamente).

Dentre os artigos, 50% (11/22) avaliaram genes que codificam resistência aos antimicrobianos. Destes, os genes relacionados a betalactâmicos foram detectados em 91% (10/11) dos artigos, quinolonas em 45% (5/11), tetraciclina e sulfonamidas em 36% (4/11), aminoglicosídeos em 27% (3/11), macrolídeos e fenicóis em 18% (2/11) e, colistina, fosfomicina e glicopeptídeos em 9% (1/22) dos artigos avaliados. Elementos genéticos móveis foram abordados em 18% (4/22) dos artigos, sendo dois sobre resíduos bovinos (artigo nº 10 e 14) que detectaram genes relacionados a integrons e plasmídeos e, dois sobre resíduos ovinos (artigo nº 5 e 13), que detectaram apenas genes relacionados a plasmídeos (Tabela 2 e Apêndice A/Tabela S1).

Nos resíduos avícolas foi detectada a presença de bactérias resistentes a todas as classes de antimicrobianos avaliadas, sendo a mais avaliada e detectada a classe das quinolonas (6/6), betalactâmicos (4/4), aminoglicosídeos (4/4) e sulfonamidas (4/4) (Apêndice A/Tabela S1). Em relação aos genes de resistência a antimicrobianos nos resíduos avícolas, doze genes foram detectados, sendo eles *blaCIT*, *blaCTX-M-Gp1*, *blaCTX-M-Gp2* e *blaCTX-M-Gp8*, *mcr-1*, *fosA3*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *sul1*, *sul2* e *tetB* (Tabela 2). Vale ressaltar que cada um deles foram detectados somente uma vez dentre os sete artigos avaliados. Dos doze genes detectados, quatro são relacionados a classe dos betalactâmicos (*blaCIT*, *blaCTX-M-Gp1*, *blaCTX-M-Gp2*, *blaCTX-M-Gp8*).

Os resíduos bovinos apresentaram bactérias com resistência fenotípica aos betalactâmicos, sulfonamidas e macrolídeos em maior proporção (100%, 4/4; 4/4 e 2/2, respectivamente), quando comparados às demais classes avaliadas. A resistência a aminoglicosídeos e quinolonas foram detectados em 75% (3/4) dos artigos, seguido pelas classes dos anfenicóis e tetraciclina, ambos com 67% (2/3) de detecção e, dos macrocrocílicos (50%, 1/2). Não foi detectada resistência aos glicopeptídeos e lincosamidas nos resíduos bovinos. Os genes *ermB*, *qnrS*, *sul1* e *sul2* foram mais representativos nos resíduos bovinos, sendo detectados em 100% (2/2) dos artigos que os avaliaram. Dentre os elementos genéticos móveis, o gene *int1*, relacionado a integrons, foi o mais representativo, sendo detectado em 100% (2/2) dos artigos. Referente aos resíduos de equinos no Brasil, apenas um artigo foi encontrado na literatura, sendo detectadas bactérias resistentes a betalactâmicos, quinolonas e sulfonamidas.

Os quatro artigos que avaliaram resíduos de ovinos detectaram resistência fenotípica aos betalactâmicos (100%, 4/4). A resistência bacteriana às classes de antimicrobianos quinolonas (3/3), aminoglicosídeos (3/3), tetraciclina (3/3), sulfonamida (2/2), diaminopirimidínicos (2/2), macrolídeos (1/1), lincosamidas (1/1) e aminocumarina (1/1) foram detectadas em todos dos artigos em que foram avaliados. Ademais, a resistência aos antimicrobianos anfenicóis e nitrofuranos não foi detectada. Os genes *bla_{CTX-M-Gp9}* (3/3), *oqxB* (2/2), *oqxB* (2/2), *sul1* (2/2), *sul2* (2/2), *tetA* (2/2), *tetB* (2/2), *tetC* (2/2), *oqxA* (1/1) e *cmlA* (1/1) foram os mais representativos com 100% de detecção, seguido dos genes *qnrB*, *aac(6')-Ib*, *bla_{CMY}* e *bla_{SHV}*, todos detectados em 50% (1/2) dos artigos. Em relação aos genes de elementos genéticos móveis nesses resíduos, os mais representativos foram *ColE-like*, *IncFIA*, *IncFIB*, *IncHI1*, *IncII* e *IncK*, com 100% (2/2) de detecção.

Os resíduos de suínos apresentaram maior proporção de bactérias resistentes às classes de antimicrobianos betalactâmicos (3/3), tetraciclina (2/2), polipeptídeos (2/2), macrolídeo (1/1), não esteroide (1/1) e diaminopirimidínicos (1/1), com 100% de detecção, seguida das quinolonas, aminoglicosídeos e sulfonamidas que representaram 67% (2/3). Em relação aos genes de resistência a antimicrobianos avaliados nesses resíduos, foram detectados os genes *ampC*, *bla_{CTY-M-Gp1}*, *bla_{CTX-M-Gp2}*, *bla_{GES}*, *bla_{OXA-1-like}*, *bla_{SHV}*, *bla_{TEM}*, *bla_{VEB}* e *qnrS*.

Dentre os resíduos avaliados, o maior índice de resistência fenotípica foi detectado nos resíduos de suínos (89%, 16/18), seguido dos resíduos de aves (85%, 22/26), bovinos (85%, 22/26), equinos (82%, 9/11) e ovinos (79%, 33/42), considerando, a quantidade de antimicrobianos avaliados e detectados. Em relação aos genes de resistência, os resíduos avícolas apresentaram maior índice de detecção, com 48% (12/25), seguido dos resíduos bovinos, ovinos e suínos com 45% (29/65), 34% (15/44) e 29% (9/31), respectivamente. Nos artigos encontrados referentes a resíduos de equinos, não foram avaliados genes de resistência a antimicrobianos.

Dos 22 artigos que abordam a resistência antimicrobiana em resíduos animais no Brasil, 18 % (4/22) avaliaram a presença de elementos genéticos móveis em resíduos bovinos e ovinos. Todos esses estudos detectaram algum tipo de elemento genético móvel, especificamente plasmídeos ou integrons.

2.5.2 Solos

Um total de 15 artigos referentes à resistência antimicrobiana em solos no Brasil foram encontrados na literatura. Destes, dois trabalhos analisaram o efeito do uso de fertilizantes (artigo nº 21 e 22) (Apêndice A/Tabela S1). Dos 15 artigos, oito avaliaram solos agrícolas com ênfase nos tipos de cobertura do solo, genes de resistência presentes e fatores relacionados ao aumento da resistência antimicrobiana (artigo nº 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29 e 30); e sete artigos

avaliaram esses fatores comparando solos agrícolas e solos florestais (artigo nº 23, 24, 31, 32, 33, 34 e 35) (Apêndice A/Tabela S1 e Tabela 3).

Nos artigos que analisaram resistência fenotípica aos antimicrobianos (9/15), foram detectadas resistências as seguintes classes: aminoglicosídeos, anfenicóis, betalactâmicos, diaminopirimidínicos, fosfomicina, macrolídeos, nitrofuranos, polipeptídeo, quinolonas, sulfonamidas e tetraciclinas. Em relação à resistência genotípica, 87% (13/15) dos artigos analisaram e encontraram resistência as seguintes classes: aminoglicosídeos, anfenicóis, betalactâmicos, diaminopirimidínicos, fosfomicina, macrólídeos, nitrofurano, polipeptídeo, quinolona, sulfonamida e tetraciclina.

Tabela 3. Resistência fenotípica, genotípica e elementos genéticos móveis detectados em solos no Brasil (continua)

Resíduos (n)	Resistência fenotípica a antimicrobianos	Resistência genotípica a antimicrobianos	Genes de elementos genéticos móveis
Floresta (7)	Aminoglicosídeo: amicacina, canamicina, estreptomicina, gentamicina, tobramicina; Anfenicóis: cloranfenicol; Betalactâmicos: amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, ampicilina-sulbactam, aztreonam, cefaclor, cefazolina, cefepime, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima, penicilina G; Diaminopirimidínicos: trimetropim; Fosfomicina: fosfomicina; Macrolídeo: eritromicina, Quinolonas: ácido nalidíxico, ciprofloxacina, norfloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, ofloxacina; Nitrofuranos: nitrofurantoína; Polipeptídeo: colistina; Sulfonamidas: sulfonamida, sulfametaxazol-teimetropim; Tetraciclina: doxiciclina, minociclina, tetraciclina.	Aminoglicosídeos: <i>aadA</i> , <i>aac(6')-Ib</i> , <i>aph(3')-Ia</i> ; Anfenicóis: <i>cmlA</i> , <i>floR</i> ; Betalactâmicos: <i>bla_{CMY}</i> , <i>bla_{SHV}</i> , <i>bla_{TEM}</i> ; <i>bla_{CTX-M-Gp2}</i> , <i>bla_{CTX-M-Gp15}</i> , <i>bla_{OXA-1-like}</i> , lactamaseB, transpeptidase; Diaminopirimidínicos: <i>dfrB3</i> , <i>dfrB7_1</i> ; Fosfomicina: <i>fosA</i> ; Glicopéptidos: <i>vanRO</i> , <i>vanR</i> , <i>vanS</i> ; Macrocíclico: <i>rbpA</i> ; Macrólidos: <i>erm</i> ; Macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas do grupo B: <i>ermB</i> , <i>ermB</i> efluxo, <i>ermE</i> ; Multirresistência: RND mfp, HTH <i>araC</i> , RND efluxo, ACR tran, <i>mexW-mexI</i> , <i>adeR</i> , <i>marR</i> , ABC1, <i>dhrrA</i> , Whib, <i>macB</i> , MFS1, ABC efluxo, Dala dala lig N, ABC tran; Polipeptídeo: <i>mcr1</i> ; Quinolona: <i>qnrA</i> , <i>oqxA</i> , flúor res DNA topo; Sulfonamida: <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>sul3</i> ; Tetraciclina: <i>tetA</i> , <i>tetB</i> , <i>tetC</i> , <i>tet</i> ribossomal protect, <i>tetM- tetW- tetO- tetS</i> .	Plasmídeo: <i>ColE-like</i> , <i>ColpVC</i> , <i>ColRNA</i> , <i>IncFIA</i> , <i>IncFIB</i> , <i>IncFIC</i> , <i>IncHI1</i> , <i>IncI1</i> , <i>IncN</i> , <i>IncP</i> , <i>IncR</i> , <i>IncF_{repB}</i> , <i>IncU</i> , <i>IncY</i> ; Integron: <i>Int1</i> .
Agricultura (15)	Aminoglicosídeo: amicacina, canamicina, estreptomicina, gentamicina, tobramicina; Anfenicóis: cloranfenicol; Betalactâmicos: amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, ampicilina-sulbactam, aztreonam, cefaclor, cefazolina, cefepime, cefotaxima, ceftazidima, ceftiofur, ceftriaxona, cefuroxima, meropenem, penicilina G, ticarcilina-ácido clavulânico,	Aminoglicosídeos: <i>aadA</i> , <i>aadA1</i> , <i>aadA5</i> , <i>aadA24</i> , <i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aph(6'')-Id</i> ; Anfenicóis: <i>cmlA</i> , <i>floR</i> ; Betalactâmicos: <i>bla_{BJP-1}</i> , <i>bla_{CMY}</i> , <i>bla_{CTX-M-Gp1}</i> , <i>bla_{CTX-M-Gp2}</i> , <i>bla_{GES}</i> , <i>bla_{LRA-9}</i> , <i>bla_{OXA-1-like}</i> , <i>bla_{OXA-48-like}</i> , <i>bla_{PER}</i> , <i>bla_{SHV}</i> , <i>bla_{TEM}</i> , <i>bla_{TEM1}</i> , <i>bla_{TEM-166}</i> , <i>bla_{VEB}</i> , lactamaseB, transpeptidase; Diaminopirimidínicos: <i>dfrA</i> , <i>dfrA1</i> , <i>dfrB3</i> ;	Plasmídeo: <i>ColE-like</i> , <i>ColpVC</i> , <i>ColRNA</i> , <i>IncF</i> , <i>IncFIA</i> , <i>IncFIB</i> , <i>IncFIC</i> , <i>IncFII</i> , <i>IncHI1</i> , <i>IncI1</i> , <i>IncL/M</i> , <i>IncN</i> , <i>IncN3</i> , <i>IncP</i> , <i>IncP1</i> , <i>IncR</i> , <i>IncF_{repB}</i> , <i>IncU</i> , <i>IncY</i> ; Integron: <i>Int1</i> .

Tabela 3. Continuação

ticarcilina;	Fosfomicina: <i>fosA</i> ;
Diaminopirimidínicos:	Glicopeptídeos: <i>vanRO</i> , <i>vanSO</i> ,
trimetropim;	<i>vanR</i> , <i>vanS</i> ;
Fosfomicina: fosfomicina;	Macrocíclico: <i>rbpA</i> ;
Macrolídeo: eritromicina;	Macrólídeos: <i>erm</i> , <i>mdfA</i> , <i>mphA</i> ,
Quinolonas: ácido nalidíxico,	<i>mtrA</i> ;
ciprofloxacina, enrofloxacina,	Macrólídeos, lincosamidas e
norfloxacina, ofloxacina,	estreptograminas do grupo B:
levofloxacina, lomefloxacina;	<i>ermB</i> , <i>ermB</i> efluxo, <i>ermE</i> ;
Nitrofuranos: nitrofurantoína;	Multirresistência: RND mfp,
Polipeptídeo: colistina;	HTH <i>araC</i> , RND efluxo, ACR
Sulfonamidas: sulfonamida,	tran, <i>mexW-mexI</i> , <i>adeR</i> , <i>marR</i> ,
sulfametaxazol-teimetropim;	ABC1, <i>ddlA</i> , Whib, <i>macB</i> ,
Tetraciclina: doxiciclina,	MFS1, ABC efluxo, Dala dala lig
minociclina, tetraciclina.	N, ABC tran;
	Polipeptídeo: <i>mcr1</i> ;
	Quinolonas: <i>qnrA</i> , <i>qnrB</i> , <i>qnrS</i> ,
	<i>oqxA</i> , <i>oqxB</i> , <i>qepA</i> , flúor res
	DNA topo;
	Sulfonamida: <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>sul3</i> ;
	Tetraciclina: <i>tetA</i> , <i>tetB</i> , <i>tetC</i> ,
	<i>tet34</i> , flúor res DNA topo;

Vale ressaltar que dos 13 artigos que avaliaram resistência genotípica, apenas um (artigo nº 23), referente a solos agrícolas e florestais, avaliou genes relacionados a multirresistência a antimicrobianos, detectando os seguintes genes: RND mfp, HTH *araC*, RND efluxo, ACR tran, *mexW-mexI*, *adeR*, *marR*, ABC1, *ddlA*, Whib, *macB*, MFS1, ABC efluxo, Dala dala lig N e ABC tran, todos relacionados a mecanismos de resistência de diversas classes de antimicrobianos. Quanto aos elementos genéticos móveis, foi detectada a presença de genes relacionados a plasmídeos e integrons nos solos florestais e agrícolas.

Dos artigos que avaliaram solos de floresta (7/15), 14% (1/7) analisaram a resistência fenotípica e genotípica dos solos (artigo nº 32), 14% (1/7) analisaram apenas a resistência fenotípica (artigo nº 33) e 71% (5/7) analisaram apenas a resistência genotípica (artigo nº 23, 24, 31, 34 e 35). A resistência fenotípica mais avaliada e detectada foi aos aminoglicosídeos (2/2), betalactâmicos (2/2) e tetraciclina (2/2), encontrados em 100% dos trabalhos analisados referentes a solos florestais. Na classe dos aminoglicosídeos, a estreptomicina foi o antimicrobiano mais avaliado e detectado (100%, 2/2), enquanto os outros antimicrobianos dessa classe, foram avaliados e detectados em apenas um artigo. Da classe dos betalactâmicos, os antimicrobianos amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, ampicilina-sulbactam, aztreonam, cefazolina, cefaclor, cefepime, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima e penicilina foram detectados em 100% (1/1) dos artigos referentes a solos de floresta. Já cefoxitina, meropenem, imipenem e piperaciclina-tazobactam foram avaliados mas não detectados (0%, 0/1); e na classe das tetraciclinas foram relatados os antimicrobianos doxiciclina (1/1), minociclina (1/1) e tetraciclina (2/2).

Em relação aos genes de resistência nos solos florestais, as classes sulfonamida e quinolona foram as mais avaliadas (3 artigos), sendo detectadas em 67% e 100% dos artigos, respectivamente. Genes relacionados a resistência a betalactâmicos (2/2), tetraciclinas (2/2), macrocíclicos (2/2), glicopeptídeos (2/2), aminoglicosídeos (1/1), anfenicóis (1/1), macrólídeos (1/1), grupo MLSB (macrólídeos, lincosamidas e estreptograminas do grupo B) (1/1) e genes relacionados a multiresistência (1/1), foram detectados em 100% dos artigos. Dentre a classe das sulfonamidas foram detectados os genes *sul1*, *sul2* e *sul3*, e dentre a classe das quinolonas foram detectados os genes *oqxA*, *qnrA* e Fluor Res DNA topo. Em apenas 14% (1/7) dos trabalhos que abordaram solos de floresta, a presença de elementos genéticos móveis foi

avaliada, sendo detectada a presença de genes da classe dos plasmídeos (*ColE-like*, *ColpVC*, *ColRNA*, *IncFIA*, *IncFIB*, *IncFIC*, *IncHI1*, *IncI1*, *IncN*, *IncP*, *IncR*, *IncF_{repB}*, *IncU* e *IncY*) e de integrons (*Int1*) (artigo nº 32).

Dentre os 15 trabalhos que abordaram resistência a antimicrobianos em solos agrícolas, 60% (9/15), 87% (13/15) e 40% (6/15) avaliaram resistência fenotípica e genotípica aos antimicrobianos e, elementos genéticos móveis, respectivamente. As classes de antimicrobianos que apresentaram maior frequência de resistência fenotípica foram os betalactâmicos (8/8), seguido de tetraciclinas (6/6), polipeptídeos (3/3), anfenicóis (3/3), diaminopirimidínicos (3/3), macrolídeos (2/2), fosfomicina (1/1) e nitrofuranos (1/1). Os aminoglicosídeos, quinolonas e sulfonamidas foram detectados em 83% (5/6), 86% (6/7) e 80% (4/5) dos artigos, respectivamente. Dos betalactâmicos, o aztreonam foi o mais avaliado e detectado, estando em 100% (4/4) dos solos analisados. Para a classe das tetraciclinas, foram detectados os antimicrobianos doxiciclina, minociclina e tetraciclina.

A detecção de resistência genotípica as sulfonamidas (5/5), diaminopirimidínicos (4/4), tetraciclinas (4/4), macrolídeos (4/4), aminoglicosídeos (3/3), anfenicóis (2/2), glicopeptídeos (2/2), macrocíclicos (2/2), grupo MLSB (1/1) e genes relacionados a multirresistência (1/1) em solos de agricultura, foi relatada em 100% dos trabalhos. Genes relacionados a resistência a betalactâmicos e a quinolonas foram avaliados em nove e seis artigos, sendo detectados em 89% (8/9) e 83% (5/6), respectivamente, com predominância de detecção dos genes *bla_{SHV}* e *bla_{CTX-M-Gp1}* relacionado aos betalactamicos, e os genes *qnrB* relacionado as quinolonas. Em 100% (6/6) dos trabalhos que avaliaram elementos genéticos móveis, genes relacionados a plasmídeos e/ou integrons foram detectados. O gene *Int1* foi o único detectado (3/3) dentre os integrons avaliados nos solos agrícolas e foram detectados 19 diferentes genes relacionados a presença plasmídeos.

2.5.3 Água de Irrigação

Apenas um artigo que aborda a detecção de genes de resistência a antimicrobianos associados a água de irrigação em ambientes agrícolas no Brasil foi encontrado na literatura (artigo nº 36), sendo detectada a presença de genes de resistência a sulfonamida (*sul1* e *sul2*) e a betalactâmicos (*bla_{GES}*, *bla_{TEM}* e *bla_{SHV}*).

2.6 DISCUSSÃO

A resistência antimicrobiana é uma preocupação de saúde pública global que requer uma abordagem de Saúde Única; em que a saúde humana, animal e ambiental, devem ser tratadas de maneira interdependentes. Ambientes agrícolas são críticos para a dinâmica da resistência antimicrobiana, atuando como reservatórios e rotas de transporte de determinantes de resistência. No entanto, eles ainda são frequentemente subestimados e negligenciados. Portanto, o objetivo deste levantamento bibliográfico é proporcionar uma visão abrangente sobre a situação da resistência em três aspectos chave dos ambientes agrícolas brasileiros: resíduos animais, solos e água de irrigação.

Entre as opções disponíveis para o uso dos resíduos animais, a aplicação agrícola como fertilizante é certamente a mais interessante, em termos agronômicos, econômicos, ambientais e sociais (CORRÊA et al., 2011). A grande vantagem da reutilização destes resíduos nos solos relaciona-se com o fornecimento de nutrientes contidos neste e com benefícios ligados ao seu conteúdo orgânico. Além disso, sua reutilização como adubo orgânico pode substituir os fertilizantes sintéticos, reduzindo os custos de produção na agricultura (BRANDJES et al., 1996; WEINDORF; MUIR; LANDERO-SÁNCHEZ, 2011). Porém, a resistência antimicrobiana em resíduos animais representa uma questão crítica no contexto agrícola, devido ao seu papel na disseminação de cepas resistentes.

No presente estudo, as classes de antimicrobianos mais avaliadas e que apresentaram maior índice de resistência bacteriana nos resíduos animais foram os betalactâmicos, tetraciclina, aminoglicosídeos, sulfonamida e quinolonas. Sabe-se que 50% de todos os antimicrobianos produzidos são destinados a fins agropecuárias e, entre os mais utilizados estão tetraciclina, betalactâmicos e sulfonamidas, que, de acordo com os resultados, estão entre as classes que apresentaram maior índice de resistência bacteriana (CALDEIRA, 2012; MADIGAN et al., 2016). A ampla utilização desses antimicrobianos na produção agrícola e, consequentemente, os elevados índices de resistência detectados nos resíduos animais são preocupantes, uma vez que essas substâncias são frequentemente empregadas no tratamento de infecções bacterianas em animais e, ocasionalmente, em seres humanos.

Nos resíduos avícolas foi detectada a presença de bactérias resistentes a todas as classes de antimicrobianos avaliadas. Ferreira et al. (2023) compararam o perfil de resistência bacteriana a antimicrobianos em camas de aviário provenientes de sistemas de produção orgânico e convencional e, detectaram que o sistema convencional apresentou maior abundância de bactérias resistentes, provavelmente devido ao uso contínuo de antimicrobianos nesse sistema, o que consequentemente, aumenta a pressão de seleção de bactérias resistentes.

No caso dos resíduos de equinos, apenas um artigo foi encontrado na literatura, sendo detectadas bactérias resistentes a betalactâmicos, quinolonas e sulfonamidas (FERREIRA et al., 2023). A resistência bacteriana a gentamicina e piperacilina-tazobactam, das classes aminoglicosídeos e betalactâmicos, respectivamente, foi avaliada, mas não detectada nesses resíduos. Neste trabalho a resistência a antimicrobianos também foi avaliada em bactérias isoladas de camas de aviário provenientes de sistemas orgânico e convencional de produção, sendo detectada a maior abundância de bactérias resistentes nos resíduos avícolas em comparação a cama de equino.

Em relação aos genes de resistência a antimicrobianos, diferenças consideráveis foram observadas entre os diferentes resíduos animais, possivelmente devido à variação no uso de antimicrobianos, nos padrões de dosagem e na dieta dos animais (HE et al., 2020; IBEKWE et al., 2021). Em trabalho realizado por Hou et al. (2015) na China, os antimicrobianos veterinários foram detectados com concentrações mais elevadas em dejetos de suínos e de aves do que em dejetos de bovinos, refletindo o uso intenso desses fármacos na criação intensiva desses animais. Van e Blaney (2016), ao compilar em um artigo de revisão dados sobre a

presença de antimicrobianos em resíduos animais de vários países, observaram três classes predominantes em cama de aviário e esterco suíno, sendo estas a quinolona, sulfonamida e tetraciclina. Já no esterco bovino, os autores mencionam que há uma menor quantidade de informações disponíveis sobre detecção de antimicrobianos nesse resíduo. Mesmo resultado foi encontrado por Tian et al. (2021), que ao compilarem dados da China, afirmaram que essas mesmas classes de antimicrobianos (quinolonas, sulfonamidas e tetraciclinas) são comumente detectadas em dejetos avícolas, bovinos e suínos. Ainda na China, Hou et al. (2015) detectaram em maior concentração a tetraciclina, seguida das sulfonamidas, fluoroquinolonas, nitrofuranos e macrolídeos em dejetos avícolas, bovinos e suínos.

Entre 2018 e 2020, o consumo médio mundial de antimicrobianos na produção animal foi de 80.541 toneladas de princípios ativos por ano em fazendas industriais (WAP, 2023). Especificamente, no Brasil, ainda não há levantamentos estatísticos em relação a comercialização de antimicrobianos para a produção animal (LENTZ, 2022). A utilização desses fármacos na saúde animal pode ocorrer de forma: i) terapêutica - os animais doentes são identificados e tratados; ii) metafílica - todos os animais (doentes / não doentes) são submetidos ao tratamento, após início dos sinais clínicos em uma parcela da população; iii) profilática - o tratamento dos animais é realizado de forma individual ou em grupo, antes da apresentação de sinais da doença; e iv) aditivos zootécnicos (também chamados de promotores de crescimento) em rações, a fim de melhorar a eficiência na conversão alimentar e estimular o crescimento (GUARDABASSI; KRUSE, 2010).

Os aditivos zootécnicos são utilizados no Brasil desde a década de 1950 e representam uma das medidas mais controversa quanto à administração desses fármacos, pois ocorre em baixas dosagens e em concentração insuficiente para eliminar todas as bactérias patogênicas no organismo animal (RONQUILLO; HERNANDEZ, 2017; ABPA, 2022). Considerando que o uso de alguns antimicrobianos é a única opção terapêutica disponível para tratar infecções bacterianas graves em humanos, a Organização Mundial da Saúde criou uma lista de antimicrobianos considerados criticamente importantes e de alta prioridade para a medicina humana, sendo a maioria desses fármacos também utilizados na medicina veterinária (WHO, 2017).

Assim, desde 2005, a Organização Mundial da Saúde atualiza regularmente essa lista para auxiliar na elaboração de estratégias de gerenciamento e avaliação de riscos da resistência aos antimicrobianos, garantindo que os antimicrobianos sejam utilizados de forma cautelosa (LENTZ, 2022). Em 2019 ocorreu a última atualização da lista que compreende 17 classes distintas de antimicrobianos (WHO, 2019). Além disso, a Organização Mundial da Saúde Animal também publicou uma lista dos antimicrobianos de importância veterinária, na qual consta os agentes antimicrobianos autorizados para uso em animais destinados a produção de alimentos (WOAH, 2021).

Na Europa, em 1997, uma decisão da Comissão Européia suspendeu o uso de avoparcina, um peptidoglicano antibiótico, a nível comunitário e, em julho de 1999 foram banidos quatro antimicrobianos promotores de crescimento, sendo eles a zincobacitracina, virginiamicina, espiramicina e tilosina (EC, 1998). Em 2006, a partir do regulamento 1831/2003/EC, foi proibida a utilização de antimicrobianos como promotores de crescimento na Comunidade Européia (EC, 2003). Recentemente, a partir do Regulamento de Execução (UE) 2022/1255, em vigor desde 9 de fevereiro de 2023, foi designado 18 antimicrobianos cuja utilização em animais não é permitida (EC, 2022). Isso ocorreu a partir de critérios para limitar antimicrobianos para uso exclusivo em humanos, incluído a alta importância para a saúde humana, risco de transmissão de resistência e necessidade não essencial para a saúde animal (EC, 2021).

Nos Estados Unidos, em janeiro de 2017, a Food and Drug Administration (FDA) estabeleceu normas para limitar o uso de antimicrobianos em animais de criação (FDA, 2017).

Assim, o uso de antimicrobianos clinicamente importantes, essenciais para o tratamento de doenças em humanos, foi proibido para fins de produção, como promoção do crescimento, aumento do ganho de peso ou eficiência alimentar. Além disso, passou a ser exigida a supervisão veterinária para administração desses antimicrobianos a animais por meio da ração ou da água. No entanto, de acordo com Hicks (2020), ainda há muitas lacunas no plano e é necessário regras mais rigorosas para conter a resistência a antimicrobianos.

Na China, em julho de 2019, o Ministério da Agricultura e Assuntos Rurais da China anunciou a proibição da produção, importação, comercialização e uso de oito antimicrobianos frequentemente utilizados como aditivos zootécnicos para promover o crescimento animal (SHAO et al., 2021). Além disso, em 2020, pela mesma entidade, houve a proibição da produção de rações comerciais contendo antimicrobianos.

No Brasil, algumas ações legislativas foram sendo adotadas a fim de controlar o uso de antimicrobianos na produção animal. Em 1988 houve a primeira regulamentação proibindo a utilização de uma substância antimicrobiana como aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. Assim, o uso da avoparcina foi proibido em todo o território nacional para tal finalidade, de acordo com Ofício Circular DFPA nº 047/1988. Em julho de 2009, foi publicada a Instrução Normativa Nº 26 que regulamenta a proibição da administração de alguns antimicrobianos como aditivos zootécnicos, dentre eles: anfenicóis, tetraciclínas, betalactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações), fluoroquinolonas, quinolonas e sulfonamidas sistêmicas (MAPA, 2009). A Instrução Normativa Nº 14 de 17 de maio de 2012 especifica a proibição de importar, fabricar ou utilizar os antimicrobianos espiramicina e eritromicina como aditivo zootécnico (MAPA, 2012). A Instrução Normativa Nº 45 de 22 de novembro de 2016 que regulamenta o uso da colistina apenas como alternativa terapêutica e proíbe seu uso como aditivo zootécnico (MAPA, 2016). Mais recentemente, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa Nº 1 de 13 de janeiro de 2020, que proíbe, em todo o território nacional, a importação, a fabricação, a comercialização e o uso dos antimicrobianos tilosina, lincomicina e tiamulina como aditivos melhoradores de desempenho animal (MAPA, 2020).

Embora o uso de antimicrobianos melhore o desempenho animal e otimize a produção em larga escala, existe uma crescente preocupação com o aumento de microrganismos resistentes decorrentes dessa prática. Devido às propriedades dos antimicrobianos, muitos não são plenamente metabolizados pelo organismo e, conseqüentemente, são liberados no ambiente por meio de excreções vesicais e intestinais. Além disso, estes resíduos podem conter bactérias patogênicas e determinantes de resistência antimicrobiana que podem ser liberados no solo quando utilizado como fertilizante orgânico na agricultura, resultando na alteração do resistoma ambiental e dos ciclos biogeoquímicos e, em problemas de natureza toxicológica em certos organismos (REGITANO; LEAL, 2010; LEAL, 2012; WELLINGTON et al., 2013; FUJII et al., 2014; CLEARY et al., 2016; HOELZER et al., 2017). Como resultado desse conjunto de fatores, as comunidades bacterianas dos diferentes reservatórios ambientais são afetadas a nível estrutural e funcional, favorecendo a intensificação e disseminação da resistência antimicrobiana (O'NEILL, 2015; BURKI, 2018).

Ao se discutir a presença de determinantes de resistência a antimicrobianos em resíduos animais e o risco da disseminação da resistência no ambiente oriunda da utilização desses resíduos como fertilizantes orgânicos nos solos agrícolas, é importante também levar em consideração a presença de elementos genéticos móveis. No presente estudo foi possível detectar que dos 22 artigos referentes à resistência antimicrobiana em resíduos animais no Brasil, 18 % (4/22), referente a resíduos bovinos e ovinos, avaliaram a presença de elementos genéticos móveis e, todos estes detectaram algum tipo de elemento genético móvel.

Esses elementos são fundamentais na disseminação da resistência antimicrobiana entre e dentro as espécies bacterianas pois promovem a mobilidade intra e intercelular do DNA, a

partir da transferência horizontal de genes (PARTRIDGE et al., 2018). Dessa forma, resíduos animais que contêm determinantes de resistência a antimicrobianos e elementos genéticos móveis, e são incorporados nos solos podem favorecer a disseminação da resistência aos antimicrobianos nos reservatórios ambientais gerando risco à saúde humana (KUTSZEPA, 2009). Assim, é importante considerar os mecanismos de disseminação, a atenuação dos determinantes de resistência a antimicrobianos e a dinâmica associada a tal, no solo e na água.

De acordo com o levantamento bibliográfico, nos estudos sobre resistência a antimicrobianos em solos, foram detectadas resistência fenotípica e genotípica a 11 classes de antimicrobianos, sendo estes aminoglicosídeos, anfenicóis, betalactâmicos, diaminopirimidínicos, fosfomicina, macrolídeos, nitrofuranos, polipeptídeo, quinolonas, sulfonamidas e tetraciclina. A presença desses determinantes de resistência a antimicrobianos pode ser influenciada por diversos fatores, como o uso intensivo e inadequado de antimicrobianos na pecuária, assim como na saúde humana, uso de fertilizantes orgânicos sem o devido tratamento, qualidade da água de irrigação, e até mesmo a poluição ambiental. Esses fatores podem incrementar antimicrobianos e determinantes de resistência a antimicrobianos nos solos e selecionar e favorecer a troca gênica por meio de transferência horizontal, que contribui para a disseminação de genes resistentes entre bactérias e, eventualmente, a aquisição por patógenos, ameaçando, portanto, as terapias antimicrobianas (NESME; SIMONET, 2015; CERQUEIRA et al., 2019; DELGADO-BAQUERIZO et al., 2022).

O primeiro registro de comparação de resistência a antimicrobianos em solos antropizados e solos naturais do Brasil é datado de 1986. Neste trabalho, foi relatada uma tendência de maior ocorrência de bactérias resistentes a estreptomicina e penicilina em solos de pastagens em relação aos solos naturais (VAN ELSAS; PEREIRA, 1986). Lemos et al. (2021) realizaram um estudo onde se propuseram a avaliar a influência do desmatamento da Amazônia no resistoma do solo, avaliando diferentes tipos de uso da terra e concluíram que na transição de solos de floresta para solos agrícolas há um aumento nos genes de resistência a antimicrobianos, indicando que atividades antropogênicas e pressão ambiental podem agir fortemente na abundância e distribuição espacial desses genes de resistência a antimicrobianos, principalmente pelo uso de esterco como fertilizantes.

A utilização de resíduos como fertilizante orgânico na agricultura também levanta a questão de possível alteração do solo pelo acúmulo de resíduos farmacêuticos e desenvolvimento de microrganismos resistentes, sendo esta a via de propagação inicial de determinantes de resistência a antimicrobianos predominante no ambiente. Apesar de tais questões variarem em função do tipo de resíduo animal e o método de aplicação no solo utilizado, essa prática permanece sendo um risco progressivo de persistência e de resistência generalizada aos antimicrobianos (BASTOS et al., 2018; HE et al., 2020). Além disso, de acordo com Guron et al. (2019), o aspecto mais significativo da aplicação de resíduos animais em solos agrícolas é o efeito “da exploração agrícola até à mesa”, pois os produtos frescos consumidos crus ou minimamente processados são cultivados em solos fertilizados com esses resíduos e, devido o contato direto solo-vegetal, os determinantes de resistência a antimicrobianos podem se acumular nesses vegetais destinados ao consumo humano, resultando em risco à saúde humana (REGITANO; LEAL, 2010). Apesar disso, a única legislação referente à qualidade de resíduos animais com finalidade agrícola é destinada à agricultura orgânica e não engloba aspectos relacionados à resistência a antimicrobianos.

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2021), os resíduos animais só podem ser utilizados na agricultura orgânica, mediante a compostagem e bioestabilização do mesmo. No entanto, a eficiência da compostagem na eliminação de contaminantes biológicos ainda é controversa, uma vez que estudos afirmam que mesmo após o processo de compostagem, os resíduos animais ainda podem conter contaminantes e, quando utilizados como fertilizante, podem transferir patógenos e determinantes de resistência no solo

(FERREIRA et al., 2021; FERREIRA et al., 2023). Dessa forma, é necessário pesquisas envolvendo o aprimoramento do processo de compostagem, a adição de técnicas, como o processo de solarização ou, até mesmo, o emprego de novas técnicas a fim de reduzir ou eliminar contaminantes dos resíduos animais, resultando na segurança de sua utilização na agricultura; fomentar a discussão acerca dos parâmetros de qualidade, levando em consideração que os indicadores já definidos pela legislação não são suficientes para determinar a seguridade biológica dos resíduos; e expandir tais parâmetros também para a agricultura convencional.

Em relação a resistência a antimicrobianos associada a água de irrigação em ambientes agrícolas no Brasil, apenas um artigo foi encontrado na literatura (artigo nº 36), sendo abordado apenas a detecção de genes de resistência a antimicrobianos. Lopes et al. (2022) detectaram a presença de genes de resistência a sulfonamida (*sul1* e *sul2*) e a betalactâmicos (*bla_{GES}*, *bla_{TEM}* e *bla_{SHV}*) em três lagoas de irrigação de culturas de chuchu, tomate, abobrinha, pimentão, entre outras, no município de São José do Vale do Rio Preto, localizado na região serrana no estado do Rio de Janeiro, que se destaca como maior produtor avícola do estado e ainda possui um abatedouro de aves na mesma região. A presença de genes de resistência a sulfonamidas e betalactâmicos em águas de irrigação é particularmente relevante, uma vez que esses antimicrobianos são amplamente utilizados tanto na medicina humana quanto veterinária, no controle de infecções bacterianas.

A agricultura irrigada é responsável por aproximadamente 70% do consumo total de água doce utilizada do mundo, e esse valor é ainda maior em muitos países em desenvolvimento (PENG et al., 2019). No Brasil, a maior parte do consumo de água também é para o setor agrícola, sendo 66,5% para irrigação, seguida pelo abastecimento urbano, pela indústria de transformação e pelo abastecimento animal (ANA, 2019). Assim, o principal destino da água recuperada no mundo é a agricultura irrigada (ANGELAKIS et al., 2018). Ademais, ressalta-se que esta água recuperada provém principalmente de estações de tratamento de águas residuais (ETAR) (LIMA et al., 2021). Isso ocorre devido a escassez de fontes de água para irrigação em diversas regiões, fazendo com que a água de reuso seja uma alternativa para enfrentar esse problema (FAO, 2017).

A avaliação da qualidade da água para irrigação é necessária e depende principalmente do tipo de consumo, cultivo e irrigação de cada cultura (LIMA et al., 2021). Sperling (1995) destaca a salinidade não excessiva e a ausência de substâncias químicas prejudiciais à saúde como principais requisitos para o uso seguro da água na irrigação de cultivos agrícolas. Especificamente, para hortaliças e demais produtos ingeridos crus ou com casca, adiciona-se a ausência de organismos prejudiciais à saúde como outro requisito de qualidade. Além desses requisitos, que expressam de forma geral e conceitual a qualidade desejada para a água, é necessário também estabelecer padrões de qualidade, respaldados por uma base legal (SPERLING, 1998). Assim, tem-se a Resolução CONAMA nº357/2005 que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento. Tal resolução classifica as águas doces em cinco classes (especial, 1, 2, 3 e 4), segundo a qualidade requerida para seus usos preponderantemente baseados nos níveis de coliformes termotolerantes e outros parâmetros químicos e físicos (CONAMA, 2005). Para irrigação é permitido o uso de água doce somente das classes 1, 2 e 3.

No Brasil, em relação as águas residuais, ainda não há uma legislação federal com critérios e parâmetros estabelecidos para avaliar sua qualidade para uso na agricultura (HANDAM et al., 2021). Isso é extremamente importante, pois a água de reuso pode ser insegura para a saúde humana e ambiental, dependendo da origem e do tratamento a que foi submetida (MOURA et al., 2020). No entanto, é válido mencionar que a Associação Brasileira de Normas Técnicas possui uma norma técnica, nº 13.969/97 (ABNT, 1997) relacionada a tal problemática, mas não é específica e traz poucos parâmetros de qualidade para água reutilizada. Ademais, existem ainda leis específicas em alguns estados brasileiros que possuem parâmetros

de qualidade para tal uso, como a COEMA do Ceará nº 2 de 2017 (COEMA, 2017) e a CONERH da Bahia nº 75 de 2010 (CONERH, 2010). Handam et al. (2022), avaliaram dureza total, turbidez, flúor, cloro residual, nitrato, nitrito, sulfato, alcalinidade, condutividade, cor aparente, pH e cloro livre como parâmetros físicos e químicos e, somente coliformes termotolerantes como parâmetro biológico para determinar a qualidade sanitária da água reutilizada para irrigação na agricultura no Brasil.

Vale ressaltar que os parâmetros para se considerar uma água de qualidade microbiológica adequada têm sido questionados atualmente. Isto se deve ao fato de que constantemente os corpos hídricos recebem efluentes de diferentes origens, seja urbano, agrícola, industrial ou hospitalar, e todos apresentam em comum a descarga de resíduos de antimicrobianos. Consequentemente, esses resíduos presentes nos efluentes irão alcançar os corpos hídricos, representando uma ameaça não só ao meio ambiente, mas também à segurança alimentar.

Especificamente, tal problemática ocasiona alterações no microbioma, na seleção de bactérias resistentes e na disseminação dos seus genes de resistência. Além disso, tem-se como efeito indireto, a transmissão de bactérias patogênicas e resistentes aos antimicrobianos, ao homem e aos animais. Isso pode acontecer a partir do consumo de água não tratada, água tratada de má qualidade, alimentos contaminados ou pelo contato da pele com água ou solo contaminados, resultando em infecções (GONÇALVES et al., 2003). Independente da via de transmissão, é essencial o estabelecimento de parâmetros eficientes no controle de qualidade das águas, seja as de fontes de abastecimento para consumo humano ou as utilizadas para recreação e irrigação agrícola. De acordo com Vital et al. (2018), a água de irrigação é uma das principais fontes de contaminação de produtos frescos com bactérias resistentes a antimicrobianos. Diante do exposto, é preocupante que até o momento não exista nenhum documento regulatório que apresente parâmetros relacionados a resíduos de antimicrobianos ou genes de resistência para determinar a qualidade da água utilizada para irrigação agrícola no Brasil, representando um risco para a Saúde Única (DeGGERONI et al., 2022).

Embora existam alguns métodos biológicos e físico-químicos, como a biodegradação, a adsorção em carvão ativado, a separação por membranas e a desinfecção com cloro, para remover antimicrobianos em águas residuais, já existem estudos que concluíram que estas medidas são apenas parcialmente eficazes (BEN et al., 2019). A interação entre bactérias ambientais e bactérias contaminantes de estações de tratamento de esgoto e águas residuais, são o meio potencial para transferência de novos mecanismos de resistência a antimicrobianos de bactérias ambientais para comensais ou patógenos humanos e animais (ou vice-versa) (ASLAN et al. 2018).

Apesar deste estudo ter encontrado somente um trabalho relacionado a resistência a antimicrobianos em ambientes aquáticos agrícola no Brasil, já existem alguns trabalhos relacionados diretamente a presença de genes de resistência em outros efluentes, como hospitalares, industriais e domésticos (FARIAS et al., 2022; DALLANORA et al., 2023; MARTINS-SILVA et al., 2023; MONTENEGRO et al., 2023). Em outros países, tem-se intensificado os esforços para ampliar a regulamentação e o monitoramento de poluentes e contaminantes que anteriormente não eram contemplados pelas disposições legais para reuso de águas residuárias (USEPA, 2012; CUI; LIANG, 2019). Além disso, a importância da água como disseminadora de resistência antimicrobiana na agricultura tem ganhado espaço (SAVIN et al., 2020; SAVIN et al., 2021; SERWECIŃSKA et al., 2021). Isto traz uma perspectiva que futuramente o Brasil caminhará para a mesma linha, principalmente levando-se em conta o seu potencial agrícola.

Neste contexto, é importante destacar que o solo é um reservatório natural de bactérias resistentes a antimicrobianos, devido a abundância e diversidade de microrganismos naturalmente presente neste ambiente. Porém, atividades antropogênicas, como a utilização de

resíduos animais como fertilizantes orgânicos e a água utilizada na irrigação, levam à modificação e incremento de determinantes de resistência que ocorrem naturalmente, que podem ser transferidos para bactérias comensais e patogênicas de humanos e animais. Dessa forma, estratégias preventivas que evitem o fluxo de genes de resistência a antimicrobianos para reservatórios ambientais, incluindo os setores agrícolas devem ser implementadas, o que irá minimizar tal problemática em animais e humanos. Isto reforça a importância de abordar a resistência a antimicrobianos em uma perspectiva de Saúde Única, um conceito que se refere a relação indissociável entre a saúde humana, animal e ambiental, e que as ações em uma área podem ter impactos significativos nas outras.

Esta revisão de literatura sobre resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil revela uma escassez de trabalhos científicos e do acompanhamento dessa problemática. Este cenário ressalta a importância da realização de mais pesquisas relacionadas a resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil, uma vez que há várias lacunas que precisam ser preenchidas como a ampliação de conhecimentos sobre 1) determinantes de resistência a antimicrobianos e elementos genéticos móveis presentes naturalmente nos diferentes tipos de solos e regiões do Brasil; 2) o comportamento das diferentes classes de antimicrobianos no ambiente; 3) a dinâmica da resistência aos antimicrobianos de forma minuciosa através de técnicas fenotípicas e moleculares de forma conjunta; 4) a contribuição de atividades antropogênicas como diferentes sistemas de manejo, uso de diferentes fontes de fertilizantes e outros fatores, na resistência a antimicrobianos nos solos; 5) o entendimento das vias de transmissão de determinantes de resistência a antimicrobianos de microrganismos dos solos para patógenos de humanos e animais; 6) práticas, técnicas e processos agrícolas eficientes para reduzir a resistência aos antimicrobianos; e 7) a proposição e avaliação de intervenções que visem mitigar a persistência e disseminação da resistência a antimicrobianos a partir destes ambientes. Estas informações serão cruciais para elucidar o papel dos ambientes agrícolas como reservatório e fonte de disseminação de resistência a antimicrobianos e quais os riscos que representam para a saúde pública. O conhecimento gerado será fundamental para elaborar propostas de vigilância ambiental que visem mitigar a disseminação da resistência a antimicrobianos; classificada como uma enfermidade emergente e uma das três maiores ameaças à saúde pública no século XXI.

2.7 CONCLUSÕES

No Brasil, os estudos relacionados a resistência a antimicrobianos em ambientes naturais e agrícolas são escassos, com um número limitado de trabalhos abordando essa temática em resíduos, um número menor ainda em solos e, menor ainda em águas utilizadas para a irrigação. Apesar dessa limitação, houve uma elevada detecção de bactérias resistentes e genes de resistência a antimicrobianos pertencentes às mais diversas classes em resíduos animais, solos agrícolas e florestais, e água de irrigação agrícola.

Embora poucos trabalhos tenham investigado os elementos genéticos móveis, todos os que o fizeram detectaram sua presença, evidenciando o potencial de disseminação desses genes de resistência em diferentes ecossistemas, com implicações significativas para a saúde humana, animal e ambiental. Além disso, são escassos os trabalhos que analisam a cadeia de transferência de determinantes de resistência em ambientes agrícolas.

Os resultados apresentados neste estudo destacam a importância de ampliação das pesquisas sobre resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas e naturais. O entendimento sobre o efeito de atividades antropogênicas, como sistema de manejo, uso de fertilizantes e agroquímicos e o descarte de resíduos de origem animal, na dinâmica e disseminação da resistência a antimicrobianos é imprescindível para subsidiar estratégias de manejo mais sustentáveis. Estas estratégias são fundamentais para mitigar os riscos associados à resistência a antimicrobianos e garantir a manutenção da saúde ambiental, animal e humana em uma abordagem integrada de Saúde Única.

3. CAPÍTULO II

ATRIBUTOS QUÍMICOS, COMUNIDADE BACTERIANA E GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS SÃO AFETADOS PELO USO INTENSIVO DO SOLO EM AGROECOSSITEMAS DA MATA ATLÂNTICA, SUDESTE DO BRASIL

Documento publicado na revista “Environmental Geochemistry and Health”

FERREIRA, P. F. A.; ROCHA, F. I.; HOWE, E.; BARBOSA, D. R.; JESUS, E. C.; SOBRINHO, N. M. B. A.; COELHO, I. S. Chemical attributes, bacterial community, and antibiotic resistance genes are affected by intensive use of soil in agro-ecosystems of the Atlantic Forest, Southeastern Brazil. *Environmental Geochemistry and Health*, v. 46, n. 4, p. 123, 2024. <https://doi.org/10.1007/s10653-024-01894-8>

3.1 RESUMO

O solo é um dos maiores reservatórios de diversidade microbiana. No entanto, apesar de seu manejo ser vital para fins agrícolas, quando praticado de forma intensiva, gera grande impacto na fertilidade, comunidade microbiana e resistoma. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do sistema de manejo intensivo do solo sobre os atributos químicos, a composição e estrutura da comunidade bacteriana e, a presença e abundância de genes de resistência a antimicrobianos. A caracterização química, diversidade bacteriana e a abundância dos ARGs foram avaliadas em Solos de áreas de cultivo intensivo de hortaliças e de florestas. Os teores de nutrientes e metais pesados apresentaram maior correlação com as áreas de cultivo agrícola. Da mesma forma, maior riqueza e diversidade de gêneros de bactérias também foram detectadas nas áreas agrícolas. Dos 18 genes alvos avaliados, sete (39%) foram detectados nos solos estudados. A comunidade bacteriana das áreas de floresta esteve relacionada somente com o gene *sulI*, além de apresentar maior teor de alumínio, acidez potencial e de matéria orgânica. O gene *oprD* foi o que apresentou maior abundância e o único que apresentou diferença significativa entre as áreas, sendo identificado apenas nas áreas de cultivo. Os genes *bla_{SFO}*, *erm(36)*, *oprD* e *van*, além do pH, apresentaram maior correlação com as áreas de cultivo de agrícola, que por sua vez apresentaram maiores teores de nutrientes. Dessa forma, sistemas intensivos de cultivo agrícola ocasionam além de alterações nos atributos químicos e na comunidade microbiana do solo, a modificação de seu resistoma, reforçando a importância do estudo da resistência antimicrobiana em uma abordagem de Saúde Única.

Palavras-chave: Microbiota do solo. Manejo do solo. Antimicrobiano. Resistência bacteriana.

3.2 ABSTRACT

Soil is one of the largest reservoirs of microbial diversity. However, although its management is vital for agricultural purposes, when practiced intensively, it has a significant impact on soil fertility, microbial community, and resistome. In this context, the aim of this study was to evaluate the effects of intensive soil management systems on the chemical attributes, composition and structure of the bacterial community, and the presence and abundance of antimicrobial resistance genes. The chemical characterization, bacterial diversity, and abundance of ARGs were assessed in soils from areas of intensive vegetable cultivation and forests. The levels of nutrients and heavy metals showed a stronger correlation with the agricultural cultivation areas. Likewise, greater richness and diversity of bacterial genera were also detected in the agricultural areas. Of the 18 target genes evaluated, seven (39%) were detected in the studied soils. The bacterial community in the forest areas was associated only with the *sulI* gene and had higher levels of aluminum, potential acidity, and organic matter. The *oprD* gene was the most abundant and the only one that showed significant differences between areas, being identified exclusively in the cultivated areas. The *bla_{SFO}*, *erm(36)*, *oprD* and *van* genes, along with pH, showed a stronger correlation with the agricultural cultivation areas, which, in turn, presented higher levels of nutrients. Thus, intensive agricultural cultivation systems not only cause changes in the chemical attributes and microbial community of the soil but also alter its resistome, underscoring the importance of studying antimicrobial resistance within a One Health approach.

Key words: Soil microbiota; soil management; antimicrobial; bacterial resistance.

3.3 INTRODUÇÃO

Nos últimos 30 anos, a Mata Atlântica tem sido considerada uma prioridade global para a conservação da biodiversidade, um dos cinco principais hotspots de biodiversidade do nosso planeta (MARQUES; GRELLE, 2021). Porém, atualmente é um dos biomas mais degradados do Brasil, intensamente devastado pelas ações do homem desde o período colonial. De acordo com Chediack e Baqueiro (2005), as florestas da região foram transformadas em áreas de silvicultura e agricultura e, devido as intensas mudanças no uso do solo, a forte agricultura e o alto consumo de energia, a Mata Atlântica ocupa o segundo lugar na emissão de gases de efeito estufa no Brasil (PINTO; METZGER; SPAROVEK, 2022).

No sistema de manejo intensivo do solo, o preparo e o revolvimento excessivo do solo realizado através de uso frequente de discos em grades e arados, causam a pulverização da camada arável e a compactação da camada subsuperficial. Esta prática leva ao selamento e escoamento superficial, intensificando o processo erosivo e a degradação de solos, o que compromete a sustentabilidade técnica, econômica e ambiental do sistema de produção. Além disso, o revolvimento do solo geralmente coincide com períodos de elevada precipitação, o que eleva o risco de erosão, principalmente pela erosão hídrica (HERNANI et al., 2002; VOLK; COGO; STRECK, 2004; BERTOL et al., 2007).

Além disso, o uso recorrente e em excesso de insumos agrícolas, como defensivos agrícolas e fertilizantes químicos, pode afetar a disponibilidade de nutrientes e redução da matéria orgânica do solo, e gerar um acúmulo de metais pesados nos solos (MINARI et al., 2017; SANTOS et al., 2021). De acordo com Pathak et al. (2022), podem ocasionar também efeitos adversos no sistema natural (contaminação do ar, água e solo), nas plantas (crescimento, metabolismo, alterações genotípicas e fenotípicas e impacto no sistema de defesa das plantas), na saúde humana (alteração genética, câncer, alergias, e asma) e nos produtos alimentares (desenvolvimento de metabólitos tóxicos e aglomeração sucessiva ao longo da cadeia alimentar). No solo, especificamente, o uso excessivo de pesticidas pode causar danos à biota benéfica, como microrganismos, abelhas, predadores, pássaros, plantas e pequenos animais (ALENGEBAWY et al., 2021).

De acordo com Mathew et al. (2012) e Jacobsen e Hjelmsø (2014), as populações de microrganismos no solo coexistem em um equilíbrio ecológico que pode ser significativamente influenciado pela espécie cultivada, pelo revolvimento do solo, aplicação de insumos e por fatores climáticos predominantes, especialmente a temperatura e a umidade. Dessa forma, sistemas de manejo do solo podem afetar a dinâmica dos microrganismos dos solos e consequentemente, sua funcionalidade na qualidade do solo através da preservação da ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica e sustentabilidade do solo (HABIG; SWANEPOEL, 2015).

Solos naturais possuem uma alta diversidade microbiana e fatores bióticos e abióticos são determinantes para a densidade e atividade dos microrganismos no ambiente. Entre os fatores bióticos, a produção de antimicrobianos por algumas espécies de fungos e bactérias pode ser destacada como um importante elemento nas relações antagônicas, que têm efeitos deletérios sobre outros microrganismos (SIQUEIRA; FRANCO, 1988). Presume-se que a resistência a antimicrobianos coevoluiu com o processo de biossíntese de antibióticos, uma vez que os organismos produtores precisam se equipar com genes de resistência para se protegerem (DAVIES; DAVIES, 2010). Assim, como os solos têm uma alta abundância de microrganismos, é coerente considerá-lo como um grande reservatório de genes de resistência a antimicrobianos, denominado resistoma ambiental (WRIGHT, 2007; XIE et al., 2018).

Outra questão que deve ser levantada e que é frequentemente negligenciada, é o papel do solo como fonte de resistência a antimicrobianos e o impacto de seu manejo intensivo na resistência. A resistência antimicrobiana é considerada um desafio global pela Organização

Mundial da Saúde, tanto para a saúde humana quanto animal (MARTONE-ROCHA et al., 2023), devido seu potencial de limitar a eficácia do tratamento de doenças infecciosas, resultando no aumento da taxa de morbidade e mortalidade e no custo do tratamento (JOHNS; ADAMS, 2015; NHUNG; CHANSIRIPORNCHA; CARRIQUE, 2017).

Além de alterações na estrutura da comunidade microbiana, atividades antrópicas, como o manejo do solo, também podem influenciar a evolução e a seleção da resistência antimicrobiana, devido à alta complexidade do solo e a competição permanente entre os microrganismos a partir do seu manejo (ARMALYTE et al., 2019). Por exemplo, antimicrobianos utilizados no tratamento de animais de produção podem se acumular em seus resíduos, que por sua vez, são muito utilizados na agricultura como fertilizante agrícola e, quando aplicados nos solos, podem carrear bactérias patogênicas, bactérias resistentes e genes de resistência a antimicrobianos (FERREIRA et al., 2023). Além disso, o aumento dos níveis de metais pesados nos solos, ocasionado pelo uso excessivo de insumos agrícolas, influencia os complexos processos globais da dinâmica dos genes de resistência, por meio de co-seleção e seleção cruzada (YAZDANKHAH; SKJERVE; WASTESON, 2018; HEYDARI et al., 2022). Acredita-se que grande parte dos genes de resistência de bactérias patogênicas teve sua origem nos ambientes naturais (KNAPP et al., 2011) e, o solo constitui um vasto reservatório de determinantes de resistência a antimicrobianos, que por sua vez, podem ser transferidos para bactérias patogênicas de humanos e animais. Todos esses fatores reforçam a importância de estudos sobre esse tema usando uma abordagem de Saúde Única que é baseada na ideia que a saúde humana está intimamente ligada à saúde animal e que ambos estão, por sua vez, ligados ao meio ambiente (WOAH, 2020).

O estudo foi desenvolvido na microbacia de Barracão dos Mendes no município de Nova Friburgo-RJ, onde há uma produção intensiva de hortaliças em áreas de montanha. Nesses sistemas ocorre uso indiscriminado de pesticidas, principalmente herbicidas, e aplicações massivas de corretivos orgânicos como cama de aves (BHERING et al., 2017). Consequentemente, esse sistema pode causar impactos seriamente negativos na saúde do solo e nos serviços ecossistêmicos. Em trabalho realizado por Barbosa et al. (2021) nas mesmas áreas do presente estudo, o herbicida oxyfluorfenol não foi detectado nas áreas florestais, mas foi detectado nas áreas de cultivo intensivo de hortaliças. Outro trabalho realizado nas mesmas áreas foi realizado por Sousa et al. (2020) que verificou contaminação dos solos das áreas de cultivo intensivo de hortaliças por Cd e Pb decorrente do uso intensivo de insumos agrícolas, principalmente fertilizantes orgânicos e fertilizantes minerais solúveis.

Esta microbacia está localizada em área do Parque Estadual dos Três Picos (PETP), unidade de conservação de gestão estadual que possui, entre as suas finalidades, a função de proteção da biota. A criação do parque representou um acréscimo de 75% em toda a área protegida por parques e reservas estaduais, visando preservar o cinturão central de Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro, que já perdeu cerca de 83% de sua cobertura florestal original. Considerando a vulnerabilidade natural da região, o cultivo intensivo de hortaliças torna-se uma ameaça para a sustentabilidade, uma vez que eleva o risco de degradação do solo e corpos hídricos, consequentemente, de queda na produtividade agrícola e riscos de contaminação do parque (CALEGARI et al., 1993).

Neste contexto, este estudo teve por objetivo avaliar os efeitos do sistema de manejo intensivo do solo sobre: i) os atributos químicos; ii) a composição e estrutura da comunidade bacteriana e, iii) a presença e abundância de genes de resistência a antimicrobianos.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Caracterização da Área de Estudo e Amostragem

A área de estudo compreende a microbacia hidrográfica de Barracão dos Mendes, situada na cidade de Nova Friburgo, região Serrana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Está situada em Latitude 22°16'55" e Longitude 42°31'152", altitude de 846 metros, e é limítrofe aos municípios de Cachoeiras de Macacu, Silva Jardim, Casimiro de Abreu, Macaé, Trajano de Moraes, Bom Jardim, Duas Barras, Sumidouro e Teresópolis.

O clima é tropical de altitude, com temperatura amena no verão e fria no inverno (PMNF, 2015). Os solos são pouco profundos e lixiviados, sendo identificados Cambissolos e Latossolos Vermelho-Amarelos, na vertente oriental de montanhas, há solos menos lixiviados como Argissolos Vermelho-Amarelos e Vermelhos Eutróficos (DANTAS et al., 2015).

A coleta dos solos foi realizada em julho de 2017 por Barbosa et al. (2021) em áreas de cultivo intensivo de hortaliças (C6, C8, C9, C11, C14, C15), onde a produção agrícola de hortaliças ocorre durante todos os 12 meses do ano, com predomínio da couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) durante o inverno e do tomate (*Solanum lycopersicum* L.) durante o verão, com aplicação intensiva de agroquímicos e fertilizantes orgânicos, sendo a cama de frango o fertilizante mais utilizado pelos produtores (SOUSA et al., 2020), e em áreas de floresta (F6, F8, F9, F11, F14, F15) de seis propriedades agrícolas. Desta forma, amostras com mesma numeração representam a mesma propriedade com uso distinto de solo. Cada amostra composta foi constituída de trinta subamostras, coletadas na profundidade de 0 a 10 cm, ao redor de cada ponto escolhido.

As áreas de floresta são Reservas Legais, que por sua vez, são áreas cobertas com vegetação nativa, localizadas no interior das propriedades rurais, necessárias ao uso sustentável dos recursos naturais, à conservação e reabilitação dos processos ecológicos, à conservação da biodiversidade e ao abrigo e proteção de fauna e flora nativas, de acordo com a Lei 12.651 de 2012, atual Código Florestal (BRASIL, 2012).

3.4.2 Avaliação dos Atributos Químicos dos Solos

A aferição dos atributos químicos e físicos dos solos foi realizada, em triplicata, por Barbosa et al. (2021). Para tal, as amostras de solo foram secas ao ar em casa de vegetação no Departamento de Solos da UFRRJ. Posteriormente, as amostras foram destorroadas e peneiradas em peneira de aço inoxidável de malha de 2 mm e foi efetuada as análises para determinação dos teores de matéria orgânica (MO), pH (H₂O), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na) e alumínio (Al) trocáveis, acidez potencial (H+Al), e argila, seguindo metodologia da Embrapa (DONAGEMA et al., 2011) e os teores pseudototais dos metais pesados zinco (Zn), manganês (Mn), cádmio (Cd), chumbo (Pb), níquel (Ni), cromo (Cr), cobalto (Co) e cobre (Cu) foram determinados usando o método de digestão EPA 3051A (USEPA, 2007) (Tabela 1). Estes foram determinados com 0,5 g das amostras de terra digeridas por via úmida em sistema fechado em digestor MARS Xpress®, por 8 min e 40 s até atingir 175°C, aplicando a relação de 3 de HNO₃ (VETEC 65%) e HCl (ISO FAR 36,5–38%). Após a manutenção da temperatura por 4 min e 30 s adicionais, foi realizado o resfriamento para avolumar os extratos a 25 mL com água milliQ, filtrados em papel filtro (filtração lenta) e armazenados em tubos tipo Falcon de polietileno. Os extratos foram analisados em Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido (ICP-OES).

Tabela 1. Atributos químicos dos solos de áreas de cultivo (C6, C8, C9, C11, C14, C15) e de floresta (F6, F8, F9, F11, F14, F15). Valores expressos com base na média da triplicata

Amostras	pH H ₂ O	P -----mg kg ⁻¹ -----	K -----	Ca -----	Mg -----	Al ³⁺ -----cmol _c dm ⁻³ -----	H+Al -----	Na -----	MO %	Arg mg kg ⁻¹	Cu -----	Ni -----	Cr -----	Co -----	Pb -----	Cd -----	Zn -----	Mn -----
C6	5,29	80,13	288,88	3,64	1,00	0,21	6,00	0,09	38,60	422,88	10,7	12,6	32,1	11,9	29,1	0,1	46,3	214,9
C8	5,98	290,63	271,75	6,51	1,14	0,01	6,63	0,12	32,37	408,13	33,7	12,5	12,1	7,5	28,1	0,2	77,3	286,0
C9	5,85	118,00	270,67	5,13	0,85	0,00	4,25	0,10	30,49	379,00	26,5	10,6	9,8	2,6	24,5	0,2	48,4	289,8
C11	4,88	175,00	197,83	3,34	0,68	0,82	10,69	0,19	38,52	398,17	3,2	0,6	15,4	6,7	26,8	1,4	7,4	72,3
C14	4,88	230,18	204,27	4,00	0,79	1,09	8,31	0,05	32,74	315,91	16,6	9,2	9,5	7,5	22,0	0,3	114,8	669,6
C15	5,20	252,83	122,17	4,20	0,55	0,37	6,48	0,04	31,38	402,33	15,9	9,4	8,7	9,7	19,3	0,6	91,6	503,6
F6	4,70	14,00	86,00	1,60	0,50	1,40	10,50	0,01	38,10	422,87	3,1	0,5	0,1	nd	nd	nd	4,0	33,2
F8	5,20	32,00	93,00	8,10	1,60	0,10	8,30	0,04	41,72	408,12	1,0	0,5	0,1	nd	11,1	nd	nd	10,8
F9	5,0	2,00	55,00	0,50	0,30	0,60	6,20	0,02	20,86	293,00	3,7	0,5	0,1	nd	8,6	nd	8,7	34,1
F11	4,90	18,00	98,00	0,40	0,40	2,40	12,40	0,02	45,51	227,00	4,3	0,5	0,1	3,3	6,4	nd	15,4	29,7
F12	4,90	24,00	110,00	0,70	0,40	1,30	9,30	0,08	31,55	336,00	3,4	0,5	0,1	1,5	0,0	nd	3,4	102,4
F14	4,90	13,00	117,00	1,50	0,50	1,20	5,90	0,02	36,89	430,00	11,5	0,5	0,1	nd	5,1	nd	10,9	30,1
F15	4,50	3,00	55,00	0,10	0,10	2,20	11,60	0,02	36,89	402,33	1,6	0,5	0,1	0,1	13,1	nd	3,4	11,9

nd = não determinado. MO = Matéria orgânica

Para validação do procedimento analítico foi utilizado o material de referência SRM 2709a San Joaquin Soil certificado pelo National Institute of Standards and Technology (NIST, 2003). O certificado que acompanha o material, os teores são determinados com base em métodos de determinação do teor total, com abertura com ácido fluorídrico (HF) para a solubilização dos silicatos do solo, ou métodos não destrutíveis, como fluorescência de raios X (NIST, 2003). As recuperações foram consideradas baseadas em valores lixiviados (*leachable concentrations*) e consideradas satisfatórias ao apresentarem-se acima de 70%. Os resultados foram expressos a partir da média da triplicata.

3.4.3 Extração de DNA Total do Solo, Preparo da Biblioteca e Sequenciamento do Gene 16S rRNA

A extração do DNA total do solo foi realizada utilizando o kit PowerSoil DNA Isolation (MO BIO Laboratories INC.), segundo protocolo fornecido pelo fabricante (<https://www.qiagen.com/us/resources/download.aspx?id=5c00f8e4-c9f5-4544-94fa-653a5b2a6373&lang=en>). Após a extração, as amostras foram armazenadas a -20 °C, e a quantidade e a qualidade do DNA obtido foram avaliadas no espectrofotômetro NanoDrop® ND-1000 (Thermo Scientific). As amostras de DNA genômico foram enviadas à empresa sul-coreana MacroGen (dna.macrogen.com) para preparação da biblioteca e sequenciamento genético.

O preparo de biblioteca dos *amplicons* da região variável V3-V4 do gene 16S rRNA gerados a partir da amplificação com os primers Bakt_341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) e Bakt_805R (GACTACHVGGGTATCTAATCC). Os amplicons foram multiplexados em uma única execução na plataforma Illumina Next-Generation Sequencing (NGS) Miseq (Illumina, EUA) 2 x 300 pb PA (paired-end). Usando Herculanase II Fusion DNA Polymerase (© Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, EUA) e o Nextera XT v2 Index Kit (© Illumina, Inc., San Diego, CA, EUA) em conjunto com os primers Bakt_341F e Bakt_805R, uma biblioteca de sequenciamento de amplicon do gene 16S rRNA foi gerada de acordo com as diretrizes do fabricante. Utilizando o software bcl2fastq v2.20 (Illumina, Inc., San Diego, CA, EUA), arquivos de chamada de base binária (BCL), os arquivos de dados brutos gerados pelos sequenciadores Illumina foram convertidos em dados de sequência no formato FASTQ, as sequências foram demultiplexadas e os códigos de barras foram removidos. A biblioteca do kit PhiX Control v3 (FC-110-3001) foi sequenciada como um controle de calibração, permitindo que leituras com pontuação Q média < 30 fossem descartadas.

3.4.4 High-Throughput-Quantitative Polymerase Chain Reaction

Um conjunto de 19 genes (16S rRNA, *aac(3)-Ib*, *aadA2*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{SFO}*, *dfrB2*, *erm(36)*, *mdtA*, *mexE*, *mphA*, *oleC*, *oprD*, *strF*, *strR*, *sul1*, *sul2*, *tetX*, *vanA*, *vat(A)*) foram quantificados pelo qPCR de alto rendimento (HT-qPCR – High-throughput Real-time PCR) como descrito por Stedtfeld et al. (2018).

Os genes *aac(3)-Ib* e *aadA2* conferem resistência aos antimicrobianos da classe dos aminoglicosídeos; *bla_{CTX-M}* e *bla_{SFO}* aos betalactâmicos; *dfrB2* à trimetropim; *erm(36)* e *vat(A)* aos MLSB (Macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas do tipo B); *mexE*, *mphA* e *oleC* aos macrolídeos; *strF* e *strR* à estreptomicina; *sul1* e *sul2* às sulfonamidas; *tetX* à tetraciclina; *vanA* à vancomicina; o gene *oprD* codifica a proteína de membrana externa e, o *mdtA* é um gene transportador multidrogas.

Os ensaios Fluidigm Biomark HT-qPCR foram executados em um sistema Fluidigm Dynamic Array Integrated Fluidic Circuits (IFCs) (Fluidigm) de acordo com o protocolo Evagreen do fabricante sem pré-amplificação (<https://biotium.com/wp-content/uploads/2013/07/PI-31000.pdf>). Todas as placas foram preenchidas usando um controlador HX IFC

(Fluidigm) e colocadas em um BioMark HD (Fluidigm). O ciclo incluiu uma ativação enzimática inicial a 95°C por 1 min, seguido por 30 ciclos de desnaturação a 96°C por 5 segundos e anelamento a 60°C por 20 segundos seguido por análise da curva de fusão para 60-95°C a uma rampa de 1°C/3s. Os dados foram exportados usando o software Real-Time PCR Analysis, versão 4.12 (Fluidigm) com a sensibilidade de pico padrão definida como 7, limite de razão de pico de 0,7, faixas de temperatura de fusão (T_m) definidas individualmente com base nos picos observados nos padrões, limite de qualidade de 0,65 e correção linear da linha de base.

As abundâncias relativas dos genes alvos em comparação com o gene 16S rRNA foram calculadas pelo método Delta Delta Ct ($\Delta\Delta Ct$) (SCHMITTGEN; LIVAK, 2008). Inicialmente, o cálculo do ΔCt de cada amostra foi inicialmente calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\Delta Ct = Ct \text{ (um gene alvo)} - Ct \text{ (um gene de referência)}$$

Então, subtrai os valores de Ct do gene alvo dos valores de Ct do gene de referência. Após determinação do ΔCt da amostra, o $\Delta\Delta Ct$ foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ (uma amostra alvo)} - \Delta Ct \text{ (uma amostra de referência)}$$

Assim, subtrai o Ct do gene alvo do valor médio do Ct do gene de referência do grupo controle. Uma vez determinado o $\Delta\Delta Ct$, aplicou-se a fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$, que resultou no valor da expressão gênica relativa de cada gene alvo. Todas as reações de qPCR foram realizadas em três réplica técnicas e um ciclo de limiar (Ct) de 30 foi usado como limite de detecção. Quando duas ou três réplicas técnicas foram amplificadas, a amostra foi considerada positiva.

3.4.5 Análise Estatística

A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada na matriz de correlação para visualizar as diferenças nas características do solo entre floresta e agricultura, com base na distribuição de suas variáveis químicas. A PCA foi conduzida utilizando o pacote R ‘factoextra’ v.1.0.7 (KASSAMBARA; MUNDT, 2018). Para identificar a magnitude da influência das variáveis do solo e dos genes de resistência a antibióticos (ARGs) na estrutura da comunidade bacteriana dos solos florestais e agrícolas, foi empregada uma análise canônica restrita de coordenadas principais (CAP) com o índice de dissimilaridade de Bray-Curtis. Posteriormente, os fatores foram comparados por meio de análise de variância permutacional (PERMANOVA, 999 permutações). As análises foram realizadas no ambiente R, principalmente com o suporte dos pacotes ‘phyloseq’ v.1.30.0 (MCMURDIE; HOLMES, 2013), ‘vegan’ v.2.5-6 (OKSANEN et al., 2016) e ‘ampvis2’ v.2.5.5 (ANDERSEN et al., 2018). As comparações dos índices de diversidade de Shannon e Simpson entre os locais foram realizadas utilizando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste post-hoc de Dunn, ambos com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Para isso, os índices de diversidade alfa foram calculados por meio da função “estimate_richness” do pacote R ‘phyloseq’ v.1.30.0 (MCMURDIE; HOLMES, 2013) e os testes estatísticos foram realizados utilizando a função “ggbetweenstats” do pacote R “ggstatsplot” v. 0.11.0 (PATIL, 2023). Por fim, o tamanho do efeito da análise discriminante linear (LDA) (LEfSe) (SEGATA et al., 2011) foi acessado no MicrobiomeAnalyst (CHONG et al., 2020) para identificar diferentes características com abundância significativa, empregando a estimativa do tamanho do efeito em um teste fatorial não paramétrico de Kruskal-Wallis. Características com pelo menos 3,0 alterações de log-fold e $\alpha < 0,05$ foram consideradas significativas. Todos os valores de p foram corrigidos pelo método da taxa de descoberta falsa (BENJAMINI; HOCHBERG, 1995) para evitar o erro Tipo I devido a múltiplos testes.

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Fertilidade do Solo e Metais Pesados

A análise de componentes principais dos atributos químicos explicou 73,6% da variação total e evidenciou uma clara segregação dos solos, agrupando-os de acordo com o sistema de uso da terra. Os usos da terra foram segregados principalmente ao longo da primeira componente (PC1), a qual explicou 58,1%, enquanto a segunda componente (PC2) explicou 15,5% da variância (Tabela 1 e Figura 1). Os teores de nutrientes e metais pesados apresentaram maior correlação com as áreas de cultivo agrícola em comparação as áreas de floresta. As áreas de cultivos agrícolas estão relacionadas a maiores teores de P, K e Na, bem como metais pesados como Cd, Cr, Cu, Mn, Ni e Pb. Já a floresta foi caracterizada por um solo com maior teor de Al e acidez potencial (Figura 1).

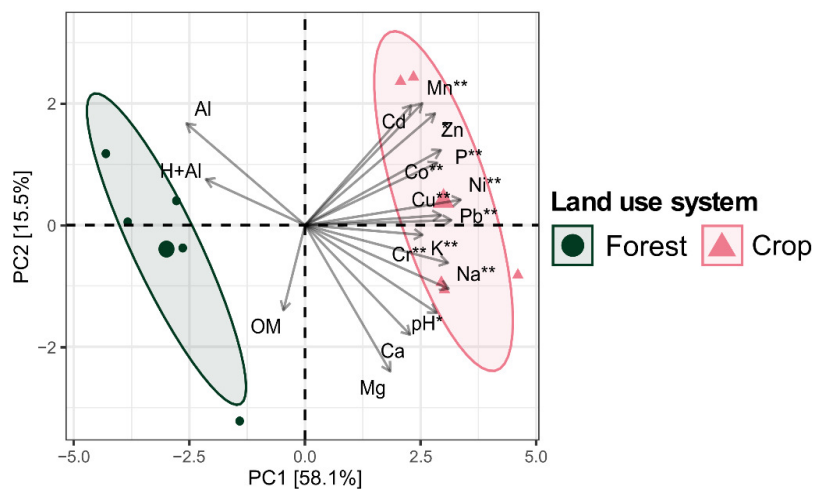


Figura 1. Análise de componentes principais das variáveis químicas dos solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta. * significância ($p \leq 0.10$); ** significância ($p \leq 0.05$).

3.5.2 Diversidade e Composição Das Comunidades Bacterianas

A riqueza das comunidades de bactérias foi maior nas áreas de cultivo em comparação às áreas de floresta, diferença essa altamente significativa (Figura 2). A diversidade calculada pelo índice de Shannon também foi maior nas áreas de cultivo, porém esta diferença só foi significativa a 6% (Figura 2). Ademais, as áreas de cultivo apresentaram maior diversidade de gêneros de bactérias estatisticamente mais abundantes (13) quando comparada às áreas de floresta (2) a partir da análise linear discriminante por efeito de tamanho (LDA LefSE) (Figura 3). Nas áreas de floresta, o gênero *Candidatus udaeobacter* foi o que apresentou maior abundância relativa, seguido do gênero *Rhodoplanes* (Figura 3 e 4). Nas áreas de cultivo, gêneros da família *Micrococcaceae*, seguido do gênero *Pedobacter* e *Sphingomonas* foram os que apresentaram maior abundância relativa (Figura 4).

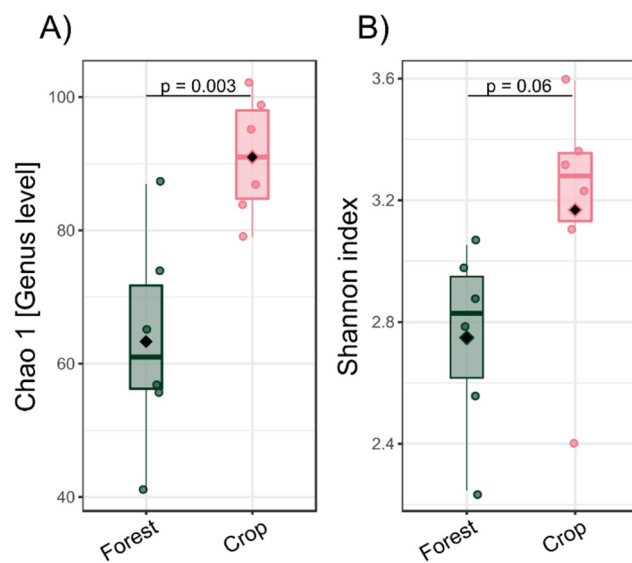


Figura 2. Índices de diversidade Chao1 e Shannon dos solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta.

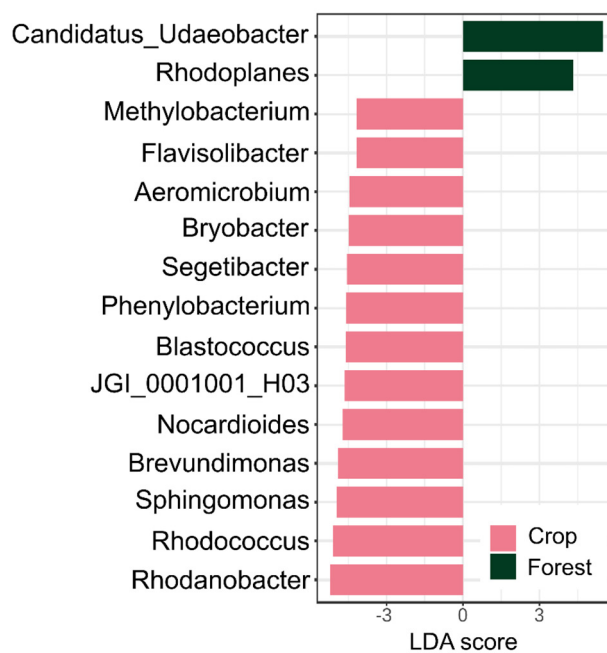


Figura 3. Genêros bacterianos mais abundantes em solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta.

	Forest	Crop
Actinobacteria; Micrococcaceae_ASV1-	4.8	8.8
Verrucomicrobiae; Candidatus Udaeobacter-	7.9	1.4
Bacteroidia; Pedobacter-	0.3	4.1
Alphaproteobacteria; Sphingomonas-	0.6	3.7
Actinobacteria; Micrococcaceae_ASV2-	3.3	0.9
Actinobacteria; Acidothermus-	3.5	0.5
Gammaproteobacteria; Massilia-	2.9	0.7
Actinobacteria; Intrasporangiaceae_ASV7-	2.2	1.2
Bacteroidia; Mucilaginibacter-	3	0.2
Actinobacteria; Intrasporangiaceae_ASV6-	1.6	1.4
Gammaproteobacteria; Rhodanobacter-	0.1	2.9
Thermoleophilia; Gaiella-	1.9	0.5
Actinobacteria; Intrasporangiaceae_ASV4-	1.7	0.6
Actinobacteria; Streptomyces-	1.3	0.9
Actinobacteria; Micrococcaceae_ASV10-	0	2.1
Actinobacteria; Rhodococcus-	0.3	1.8
Actinobacteria; Arthrobacter-	0.8	1.3
Actinobacteria; Micrococcaceae_ASV11-	1.4	0.5
Acidobacteriia; Candidatus Koribacter-	1.5	0.3
Actinobacteria; Micrococcaceae_ASV12-	0.2	1.5

Figura 4. Porcentagem dos gêneros que obtiveram maior quantidade de sequências do gene 16S rRNA em solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta. *Os valores se referem ao percentual.

3.5.3 Genes de Resistência a Antimicrobianos

Dos genes relacionado à resistência a antimicrobianos, foram detectados 39% (7/18) nos solos das áreas de cultivo e de floresta, sendo eles: *blaSFO*, *erm(36)*, *mphA*, *oprD*, *sul1*, *tetX* e *vanA*. O gene *oprD* foi o que apresentou maior abundância dentre todos os genes e o único que apresentou diferença significativa entre as áreas, sendo identificado apenas nas áreas de cultivo (Figura 5).

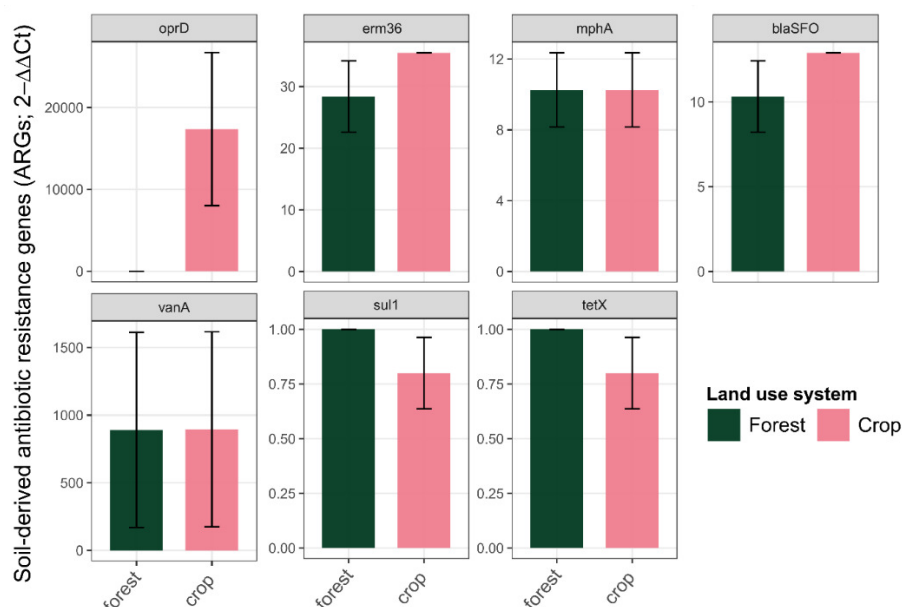


Figura 5. Quantificação relativa dos genes nos solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta. *As barras de erro indicam o desvio padrão.

Através da análise canônica de coordenadas principais é possível observar que os dois eixos concentram fatores responsáveis por 33,5% da variância total apresentada pelos dados

(Figura 6). Essa análise revelou um claro padrão separando áreas de cultivo agrícola e de floresta, mostrando diferenças significativas na composição das comunidades microbianas (PERMANOVA $F = 1,864$, $p = 0,008$). A comunidade microbiana das áreas de cultivo agrícola, estão relacionadas a maior abundância dos genes *bla*_{SFO}, *erm*(36), *oprD* e *van*, além do pH. Já a comunidade microbiana das áreas de floresta esteve relacionada a uma maior abundância somente do gene *sul1*, além de apresentar maior teor de alumínio, acidez potencial e de matéria orgânica.

Os metais Cd, Mn, Zn, Ni, Pb, Cr e Co apresentaram correlação positiva com os genes *bla*_{SFO}, *erm*(36) e *oprD* (Figura 7A). O gene *oprD* apresentou correlação positiva com o pH, Na, Cu e outras variáveis do solo. O cobre por sua vez apresentou correlação negativa com os genes *sul1* e *tetX* e positiva com *vanA* (Figura 7A), e o aumento do seu teor no solo está positivamente correlacionado (85% e p-valor < 0.001) com o aumento do gene *oprD* (Figura 7B). O alumínio apresentou correlação positiva com os genes *tetX*, *sul1* e *mphA*.

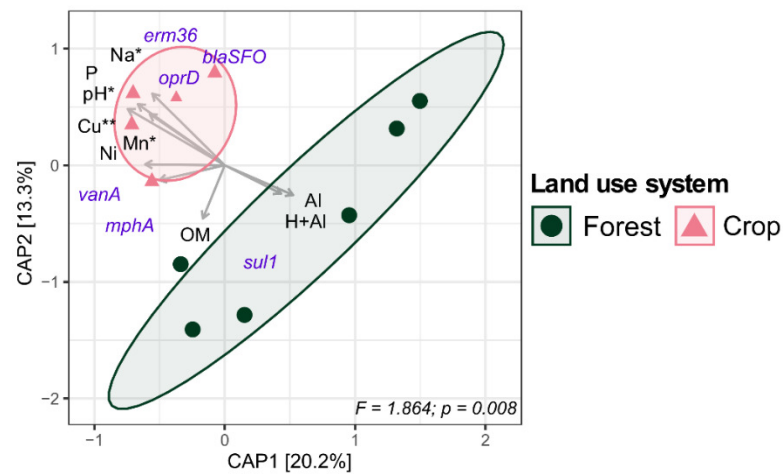


Figura 6. Análise de coordenadas principais com as sequências de 16S rRNA e variáveis químicas dos solos de áreas de cultivo agrícola e de floresta. * significância ($p \leq 0.10$); ** significância ($p \leq 0.05$).

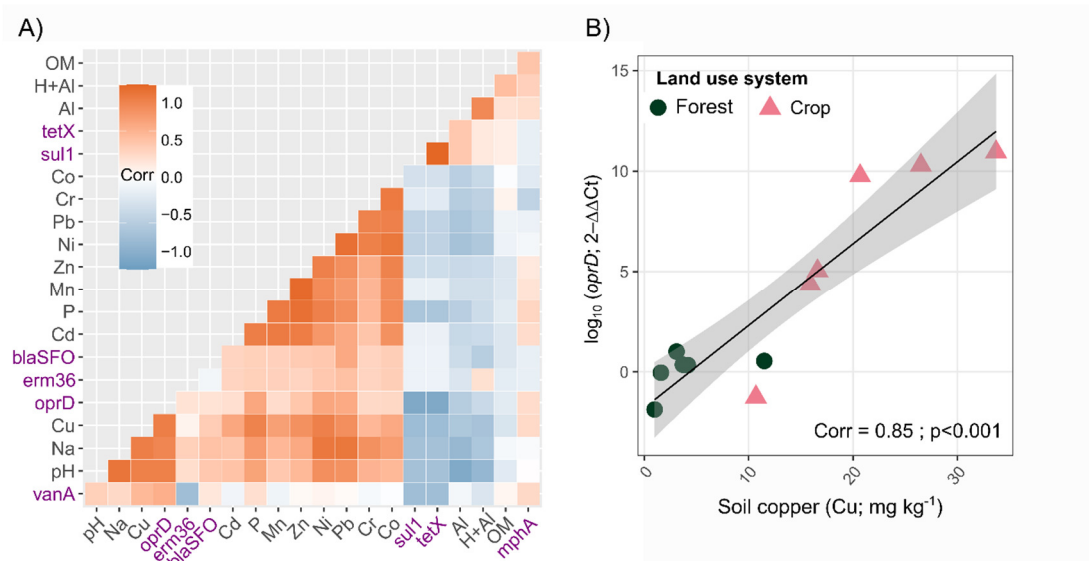


Figura 7. (A) Correlação entre as variáveis químicas dos solos e os genes de resistência a antimicrobianos e, (B) Correlação positiva entre o gene *oprD* e o cobre.

3.6 DISCUSSÃO

A discrepância dos atributos químicos, bem como os metais pesados das áreas de cultivo agrícola em comparação às áreas de floresta possivelmente ocorreu devido às práticas de fertilização e uso intensivo de insumos agrícolas nestas áreas (Figura 1 e Tabela 1). A produção de alimentos exige o uso de insumos, sejam esses orgânicos ou não, para garantir altas produtividades, no entanto, estes insumos acabam alterando química e fisicamente as propriedades do solo (SANTOS, 2019). Os metais pesados, por sua vez, estão presentes naturalmente nos solos, mas seus teores podem ser facilmente elevados por atividades antrópicas, como o uso intensivo e continuado de tais insumos.

De modo geral, propriedades químicas do solo tendem a apresentar variações de acordo com o uso de terra (MENDES et al., 2015; TELLEN; YERIMA, 2018; METHE et al., 2020). Inclusive, de acordo com Pereira e Thomaz (2015), o sistema de uso tem maior efeito sobre os atributos químicos do que o tempo de manejo. Santos (2019), ao avaliar metais pesados em áreas agrícolas e Cerrado nativo no Oeste da Bahia, sugeriram que os teores de metais pesados do estudo foram provenientes das atividades agrícolas nos sistemas de plantio convencional e plantio direto, uma vez que os teores desses elementos foram significativamente maiores que os resultados encontrados nas áreas sem interferência antrópica. Núñez, Sobrinho e Mazur (2006) também concluíram que o tipo de manejo do solo associado ao uso intensivo de insumos agrícolas é capaz de aumentar os níveis de cádmio, níquel, chumbo, zinco e manganês no solo e nas plantas cultivadas.

Em estudo realizado por Korish e Attia (2020) foram detectados teores de chumbo, cádmio, arsênio, níquel, boro e alumínio em cama de aviário, insumo esse utilizado nas áreas de cultivo agrícola do presente estudo. Esse material, quando aplicado no solo como fertilizante, tem um potencial de contaminá-lo com patógenos, antimicrobianos e metais pesados (KYAKUWAIRE et al., 2019). Esses metais podem se acumular nas camadas superficiais do solo, contaminar os corpos hídricos e tornar-se biodisponíveis e fitotóxicos, comprometendo a qualidade da cultura (SOUZA et al., 2019). Além disso, eles podem ser transmitidos através da cadeia alimentar para os seres humanos, representando uma ameaça não só ao meio ambiente, mas também à segurança alimentar (HENAO; GHNEIM-HERRERA, 2021). No presente estudo, foram detectados alguns gêneros nas áreas de cultivo agrícola que abrigam espécies patogênicas, como *Brevundimonas* e *Rhodococcus* (Figura 3). De acordo Ryan e Pembroke (2018), o gênero *Brevundimonas* é um agente patogênico muito difundido e que pode causar infecções invasivas e severas. Já o gênero *Rhodococcus* abriga a espécie *Rhodococcus equi*, mais conhecido como patógeno de cavalos, causa infecções oportunistas graves em pessoas (VÁZQUEZ-BOLAND; MEIJER, 2019).

Vale ressaltar que as propriedades químicas e físicas dos solos têm influência crucial na composição e diversidade da comunidade microbiana (TIAN et al., 2017). Dessa forma, já era esperado que as discrepâncias nestes atributos devido às mudanças de uso da terra refletiriam em diferenças na diversidade e estrutura da comunidade microbiana (Figura 2, 4 e 6). Em relação à diversidade bacteriana, o índice de Chao1 indicou diferenças significativas entre as áreas de estudo, sendo maiores índices observados nas áreas de cultivo em comparação as áreas de floresta (Figura 2). Esse fato é comumente reportado na literatura, onde a conversão de áreas de floresta para pastagem e agricultura leva ao aumento deste índice (CERQUEIRA et al., 2018; PETERSEN; MEYER; BOHANNAN, 2019; ROCHA et al., 2021). O maior valor do índice de Chao1 indica uma maior riqueza de espécies de bactérias nos solos. Essa maior riqueza de espécies encontrada nos solos das áreas de cultivo agrícola é reflexo da maior concentração de nutrientes provenientes da adição de fertilizantes dos solos, bem como o aumento do pH devido à calagem. Juntos, esses parâmetros resultam em uma maior quantidade de nichos ecológicos

e, consequentemente, uma maior riqueza de organismos ocupando esses nichos (CARVALHO et al., 2016).

A análise linear discriminante por efeito de tamanho (LDA LefSE) evidenciou os gêneros de bactérias estatisticamente mais abundantes nos dois tipos de sistemas de uso da terra, sendo que as áreas de cultivo apresentaram maior diversidade de gêneros quando comparada as áreas de floresta (Figura 3), confirmando o maior valor do índice de Chao1 nestas áreas. Nas áreas de floresta, os gêneros *Candidatus Udaeobacter* e *Rhodoplanes* foram os que apresentaram maior abundância relativa (Figura 3 e 4). Segundo Willms et al. (2021), “*Candidatus Udaeobacter*”, pertencente à família Verrucomicrobia, representa um dos gêneros bacterianos mais abundantes no solo. Esses autores reforçam ainda que as bactérias desse gênero que residem em florestas apresentam resistência a múltiplos antimicrobianos, o que pode justificar a sua maior abundância em relação a outros gêneros e, representa uma característica fundamental do estilo de vida destes microrganismos que até agora tem sido negligenciados e pouco estudados.

O gênero *Rhodoplanes* acomoda espécies de bactérias fototróficas facultativas que crescem otimamente sob condições anaeróbicas. Pertencem à família *Hyphomicrobiaceae* da ordem *Rhizobiales* dentro da classe *Alphaproteobacteria* (HIRAISHI; IMHOFF, 2015). Bactérias desse gênero tem a capacidade de degradar azitromicina e já foram detectadas em solos de floresta (GARRITY; BELL; LIBURUN, 2004; AGUIAR et al., 2020). Vale ressaltar ainda que o filo *Acidobacteria* apresentou maior abundância relativa nas áreas de floresta quando comparada as áreas de cultivo (Figura 4). Mesmo comportamento foi relatado por Goss-Souza et al. (2017), que ao avaliarem a dinâmica da comunidade bacteriana em solos sob florestas, pastagens e cultivos de plantio direto na Mata Atlântica, afirmaram que esse filo é mais abundante em áreas de floresta do que em áreas agrícolas. O filo *Acidobacteria*, assim como o *Proteobacteria*, foram descritos como um grupo dominante em solos florestais, incluindo da Mata Atlântica, com redução significativa com a mudança de uso da terra (FAORO et al., 2010; NAVARRETE et al., 2013; MIYASHITA, 2015; BIZUTI et al., 2022).

Nas áreas de cultivo, os gêneros da família *Micrococcaceae*, seguido do gênero *Pedobacter* e *Sphingomonas* apresentaram maior abundância relativa (Figura 4). A família *Micrococcaceae* pertence ao filo *Actinobacteria* e, os gêneros *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Kocuria*, *Rothia*, *Zhihengliuella* e *Citricoccus* são, entre outros, membros desta família (HAHNE et al., 2019). De acordo com Ventura et al. (2007) e Guerrero (2023), membros do filo *Actinobacteria* produzem esporos, o que aumenta sua capacidade de resistir a condições extremas, incluindo condições físicas (como temperatura, pH, radiação), condições químicas (salinidade) ou mesmo condições biológicas (pressão de seleção) e, no presente trabalho esse filo apresentou alta abundância relativa em ambas as áreas estudadas, apesar de ter maior abundância nas áreas de cultivo do que nas áreas de floresta. De acordo com Viana et al. (2018), as espécies de *Pedobacter*, como sugerido pelo nome, foram predominantemente isoladas de solos, mas também são recuperadas da água (incluindo água potável), alimentos refrigerados, peixes, composto, lodo, geleiras e outros ambientes extremos. Assim como a *Candidatus udaeobacter* abundante nas áreas de florestas, as espécies do gênero *Pedobacter* também são consideradas bactérias ambientais multirresistentes (VIANA et al., 2018).

Dessa forma, baseado nos diferentes gêneros bacterianos identificados nas áreas de cultivo agrícola e de floresta, é importante destacar que mudanças no uso da terra que alteram diretamente as propriedades químicas do solo, especialmente os teores de metais pesados e, grupos microbianos específicos no solo, ocasionam mudanças na composição bacteriana e podem ter efeitos na sua funcionalidade no ambiente (MENDES et al., 2015). Apesar de sua importância, o entendimento das consequências da mudança do uso da terra sobre o perfil funcional dos microrganismos ainda é incerto. Além disso, apesar da produção de antibióticos e a presença de determinantes a resistência a antimicrobianos ser natural nos solos, esses

sistemas de manejo do solo também podem alterar a distribuição e abundância dos determinantes de resistência a antimicrobianos.

Nos solos das áreas de cultivo e de floresta foram detectados 39% (7/18) dos genes relacionados à resistência a antimicrobianos (ARGs) avaliados (Figura 5). Oliveira et al (2019), ao avaliar a ocorrência do gene *mcr*-1 de resistência à colistina nas mesmas áreas do presente estudo, detectou sua presença em todas as áreas de cultivo agrícola e de floresta, sendo este o primeiro relato da presença do gene de resistência à colistina em solos do Brasil. Wang et al. (2022) ao investigarem padrões de ARGs e comunidade bacteriana em solos de áreas florestais em Enshi, China, detectaram apenas 5% (11/235) dos genes avaliados nas amostras, incluindo o gene *oprD*. O mesmo ocorreu em trabalho realizado por Hu et al. (2018) que ao avaliarem comunidades bacterianas em solos de todos os biomas florestais na China, detectaram 20% (32/160) dos ARGs avaliados em solo florestal.

O gene *sul1*, que confere resistência ao antimicrobiano da classe das sulfonamidas, esteve relacionado a comunidades microbianas das áreas de floresta (Figura 6). Segundo Willms et al. (2019), a resistência a este antimicrobiano ocorre naturalmente nas comunidades bacterianas do solo residentes na floresta, uma vez que foram detectados genes que conferem resistência a sulfonamidas em solo florestal sem histórico de exposição a drogas sintéticas. As áreas de florestas apresentaram maiores teores de Al^{3+} , que apresentou correlação positiva com os genes *tetX* e *mphA*, além do *sul1*. Em trabalho realizado por Knapp et al. (2017) também foram encontradas correlações significativas de alumínio com genes de resistência a antimicrobianos (*bla_{OXA}*, *bla_{TEM}*, *tetM*, *tetW*, *sul2* e *sul3*). Os genes de resistência a antimicrobianos têm circulado por um longo período em comunidades bacterianas, uma vez que é estimado que a origem da produção de antibióticos está entre 2 bilhões a 40 milhões de anos atrás, antes mesmo do início da utilização dos antimicrobianos pela humanidade (D'COSTA, 2011). Tal fato explica a presença de bactérias resistentes a antimicrobianos em ambientes onde não há pressão de seleção ocasionada pela utilização frequente de antimicrobianos, como nas florestas.

No presente estudo, o gene *oprD* - que codifica a proteína de membrana externa, ou seja, componentes do sistema de efluxo - foi detectado apenas nas áreas de cultivo e foi o mais abundante dentre todos os genes detectados. De acordo com Delgado-baquerizo et al. (2022), o gene *oprD*, juntamente com os genes *oprJ* e *acrA-05* são os ARGs mais dominantes em solos de todo o mundo, estando presentes em todos os biomas. Uma vez que o gene *oprD* apresentou maior abundância nas áreas de cultivo agrícola, houve uma correlação positiva entre a sua ocorrência e o pH, Na e outras variáveis do solo, como esperado. O aumento do Cu no solo está positivamente correlacionado (85% e p-valor < 0.001) com o aumento do gene *oprD* (Figura 7B). Isso ocorreu devido à maior abundância desse gene nos solos de cultivo agrícola, que por sua vez, apresentaram maior teor de cobre em relação as áreas de florestas. O cobre é um metal pesado muito utilizado no manejo orgânico e mesmo em níveis relativamente baixos, sua presença nos solos tem se correlacionado positivamente com a prevalência de certos genes de resistência a antimicrobianos, indicando que níveis substancialmente subtóxicos deste metal podem aumentar a prevalência de ARGs (KNAPP et al., 2017; POOLE, 2017).

Sistemas intensivos de cultivo agrícola incluem práticas de fertilização que ocasionam alterações na comunidade microbiana e nos atributos químicos do solo, podendo inclusive aumentar seus teores de metais pesados. Em trabalho realizado por Heydare et al. (2022), foi possível constatar que a estrutura da comunidade bacteriana foi alterada em solos com altos níveis de metais pesados. O acúmulo de metais pesados no solo pode ser proveniente da descarga de produtos químicos agrícolas, fertilizantes, esterco animal e outros resíduos aplicados no solo com o intuito de aumentar a produtividade agrícola (SEILER; BERENDONK, 2012). Vale ressaltar que a exposição da microbiota do solo a metais pesados

pode resultar em seleção indireta de bactérias resistentes a antimicrobianos e promover a manutenção e propagação de genes de resistência (PIRELA; SUÁREZ; VARGAS, 2014).

Li et al (2022), ao avaliar bactérias ativas resistentes a antibióticos (ARB) que habitam em diferentes solos, concluíram que sua abundância e atividade nos solos aumentaram com as atividades antrópicas. No presente estudo, os genes *bla_{SFO}*, *erm(36)*, *mphA*, *oprD* e *vanA* estão relacionados às áreas de cultivo agrícola (Figura 6) e isso pode estar relacionado a utilização de cama de aviário fresca nos solos destas áreas. Sabe-se que além de veicular patógenos, os resíduos animais também podem conter genes de resistência, bactérias resistentes e até mesmo concentrações de antimicrobianos que não foram completamente metabolizados pelo animal (CHIESA et al., 2015; FERREIRA et al., 2023). Assim, os resíduos animais, quando utilizados na agricultura sem tratamento prévio, podem incrementar todos esses determinantes de resistência a antimicrobianos nos solos e vegetais, o que pode ocasionar alterações no perfil da população bacteriana e no resistoma ambiental, afetando os ciclos biogeoquímicos e favorecendo a transferência de genes de resistência para bactérias comensais e patogênicas de humanos e animais, constituindo um grave potencial de ameaça para a saúde pública (WELLINGTON et al., 2013; HOELZER et al., 2017). Além disso, como foi verificado neste trabalho, o aumento dos teores de metais pesados pode ser um dos fatores que tem favorecido a seleção e o aumento da abundância dos genes de resistência a antimicrobianos (Figura 7a).

A resistência aos antimicrobianos é um desafio de saúde global (LARSSON; FLACH, 2022). De acordo com Perry, Wagglechner e Wright (2016), a origem de muitos genes de resistência em patógenos é oriunda de bactérias ambientais, incluindo organismos produtores de antibióticos, que existem há milhares de anos. Devido a isso, a resistência bacteriana aos antimicrobianos necessita de uma abordagem multidisciplinar, multissetorial e coordenada para abordar as ameaças à saúde na interface homem-animal-ambiente, que são abrangidas pelo conceito de Saúde Única (ROBINSON et al., 2016). Nos solos, apesar dessa resistência ocorrer naturalmente, sistemas intensivos de manejo do solo que causam modificações na estrutura e composição da comunidade microbiana e no resistoma do solo, podem aumentar a incidência de determinantes de resistência e favorecer sua transferência para bactérias comensais e patogênicas de humanos e animais, resultando em risco a saúde pública (FERREIRA et al., 2023).

3.7 CONCLUSÃO

Dessa forma, afirma-se aqui que o uso intensivo do solo altera seus atributos químicos, que por sua vez, influencia na composição e diversidade da comunidade microbiana presente e, conseqüentemente, a dinâmica dos genes de resistência a antimicrobianos. Todos esses fatores afetados comprometem a saúde e qualidade do solo e reforçam a importância de estudos sobre esse tema usando uma abordagem de Saúde Única.

4. CAPÍTULO III

RESISTÊNCIA A METAIS PESADOS EM BACTÉRIAS ISOLADAS DE RESÍDUOS ANIMAIS DE DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO

4.1 RESUMO

Metais pesados são frequentemente utilizados na produção animal, sendo adicionados à ração animal como aditivo zootécnico. Devido à baixa taxa de absorção pelo organismo dos animais, esses metais são majoritariamente excretados, aumentando o risco de contaminação do solo e a água. Além disso, bactérias comensais do trato gastrointestinal dos animais podem desenvolver resistência a esses metais. Assim, os resíduos provenientes da produção animal, que são amplamente utilizados na agricultura como fertilizante agrícola, podem atuar como fontes de bactérias resistentes a metais pesados, representando um risco à saúde pública, especialmente devido à possibilidade de co-seleção com antimicrobianos. Baseado nisso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de resistência a metais pesados em bactérias de cama de cavalo e camas de aviário provenientes dos sistemas orgânico e convencional de produção. Noventa e duas cepas bacterianas, pertencentes aos gêneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* e *Proteus*, isoladas durante a compostagem de cama de cavalo e cama de aviário orgânica e convencional, foram avaliadas quanto ao seu crescimento em diferentes concentrações de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo pela técnica de microdiluição em placas poliestireno de 96 poços. Todos os isolados, independente do gênero bacteriano, do resíduo animal e do sistema de produção, apresentaram curva de crescimento semelhante ao longo das diferentes concentrações dos metais pesados. A maioria deles apresentou um declínio de crescimento à medida que aumenta a concentração dos sais, seguida pela retomada do crescimento na maior concentração testada. Assim, resíduos animais podem ser fonte de bactérias resistentes a metais pesados. Quando esses resíduos são utilizados na produção agrícola, podem contaminar o solo, vegetais e, consequentemente o homem e os animais, representando um risco à saúde pública. Por outro lado, a elevada resistência aos metais pesados apresentada por estes isolados bacterianos, evidencia seu potencial para aplicação em estratégias de biorremediação de áreas contaminadas por metais pesados.

Palavras-chave: Chumbo. Cobre. Co-seleção. Fertilizante orgânico. Saúde Única. Zinco.

4.2 ABSTRACT

Heavy metals are frequently used in animal production, added to animal feed as a zootechnical additive. Due to the low absorption rate by the animals' organisms, these metals are primarily excreted, increasing the risk of soil and water contamination. Additionally, commensal bacteria in the gastrointestinal tract of animals may develop resistance to these metals. Therefore, residues from animal production, widely used in agriculture as fertilizer, can serve as sources of heavy metal-resistant bacteria, posing a risk to public health, particularly due to the potential for co-selection with antimicrobials. Based on this, the objective of this study was to evaluate the resistance profile to heavy metals in bacteria from horse bedding and poultry litter from organic and conventional production systems. Ninety-two bacterial strains, belonging to the genera *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* and *Proteus*, isolated during the composting of organic and conventional horse bedding and poultry litter, were assessed for their growth in different concentrations of copper sulfate, zinc sulfate, and lead nitrate using the microdilution technique in 96-well polystyrene plates. All isolates, regardless of bacterial genus, animal waste, or production system, exhibited similar growth patterns across the varying concentrations of heavy metals. Most of them showed a decline in growth as the salt concentration increased, followed by a resumption of growth at the highest concentration tested. Thus, animal waste can serve as a source of bacteria resistant to heavy metals. When these wastes are used in agricultural production, they can contaminate the soil, plants, and, consequently, humans and animals, representing a risk to public health. On the other hand, the high resistance to heavy metals exhibited by these bacterial isolates underscores their potential for application in bioremediation strategies for areas contaminated by heavy metals.

Key words: Lead. Copper. Co-selection. Organic fertilizer. One health. Zinc.

4.3 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira se destaca mundialmente desempenhando um importante papel econômico e social, além de apresentar constantes taxas de crescimento, em termos de produção, exportação e consumo (SILVA; BRITO, 2024). Essa crescente expansão traz consigo um aumento significativo na geração de resíduos e, sua gestão inadequada pode causar impactos ambientais graves, como a poluição de rios, contaminação do solo e a emissão de gases que contribuem para o aquecimento global. Para mitigar esses impactos, é fundamental buscar alternativas sustentáveis para o manejo e destinação dos resíduos da pecuária.

A cama de forração dos locais onde os animais permanecem é um material utilizado com o objetivo de evitar o contato direto do animal com o piso, servir de substrato para a absorção da água, incorporação de fezes, urina e restos de alimentos não aproveitados ou deteriorados (VIRTUOSO et al., 2015). Estas camas são um dos principais resíduos gerados pela atividade pecuária intensiva (GOMEZ et al., 2023). Uma alternativa sustentável para a disposição desses resíduos é sua utilização na produção agrícola como fertilizantes orgânicos ou condicionadores do solo, devido seu alto potencial de aporte nutricional e incremento de matéria orgânica (KOMAR et al., 2012; SOUZA; RODRIGUES, 2017).

Porém, se não manejado adequadamente, esse material pode trazer consequências indesejáveis, como riscos de contaminação ambiental e problemas de saúde pública (FUJII et al., 2014). Isso ocorre porque esses resíduos contêm microrganismo patogênicos, excesso de nutrientes e substâncias químicas que podem causar a contaminação do solo e das águas subterrâneas, bem como emissões de gases que intensificam o fenômeno do efeito estufa (GARLIPP et al., 2011; PARVAGE; ULÉN; KIRCHMANN, 2015).

Na pecuária, alguns metais pesados como cobre (Cu) e zinco (Zn) são adicionados à ração animal para diversos fins, como auxiliar na função hormonal, reprodução, síntese de vitaminas, formação de enzimas e manutenção do sistema imunológico (OLIVEIRA, 2019). Porém, como são pouco absorvidos pelo organismo animal, são excretados, podendo contaminar o solo e a água por meio da eliminação direta das excretas do animal ou por meio da utilização das camas de forração e esterco animal como fertilizante (YAZDANKHAH; SKJERVE; WASTESON, 2018).

De acordo com Henao e Ghneim-Herrera (2021), a poluição do solo por metais pesados representa uma ameaça ao meio ambiente e à segurança alimentar. Esses compostos potencialmente tóxicos têm o potencial de se acumular no solo e na água, comprometendo a qualidade dos recursos naturais (MARKERT, 2007). Além disso, a exposição humana a metais pesados pode levar a efeitos adversos na saúde, incluindo problemas neurológicos, renais e hepáticos (LONDOÑO-FRANCO; LONDOÑO-MUÑOZ; MUÑOZ-GARCÍA, 2016).

No ambiente, a exposição contínua a metais pesados pode selecionar microrganismos que possuem mecanismos de resistência (SILVA, 2011). Além disso, estudos sugerem que a contaminação por metais em ambientes naturais pode ter um papel importante na manutenção e proliferação de resistência a antimicrobianos (SUMMERS et al., 1993; ALONSO; SANCHEZ; MARTINEZ, 2001). Microrganismos que são expostos a contaminação ambiental de antimicrobianos e metais pesados estão sujeitas a co-seleção da resistência a antimicrobianos e metais pesados que pode ocorrer por mecanismos de co-resistência e resistência cruzada (IMRAM; DAS; NAIK, 2019). Tal fato constitui um grave potencial de ameaça saúde pública, uma vez que bactérias resistentes a antimicrobianos limitam a eficiência destes, dificultando o tratamento de infecções (BAKER-AUSTIN et al., 2006; IMRAM; DAS; NAIK, 2019).

Levando em consideração que a resistência das bactérias a metais pesados empregados na produção animal pode ocasionar problemas de saúde pública, e que os resíduos animais podem ser um reservatório e fonte de disseminação de resistência quando aplicados em solos,

o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de resistência a metais pesados em bactérias de cama de cavalo e camas de aviário provenientes dos sistemas orgânico e convencional de produção.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Origem e Caracterização de Bactérias

Noventa e duas cepas bacterianas foram isoladas e identificadas de camas de aviário provenientes dos sistemas convencional (CAC) e orgânico (CAO) de produção e de cama de cavalo (CC) durante o processo de compostagem que foi conduzido por um período de 125 dias (FERREIRA et al., 2021) (Tabela 1 e Apêndice B/Tabela S1). Os isolados identificados foram cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob número A19B0CE.

Tabela 1. Distribuição dos gêneros bacterianas isolados de cama de aviário convencional (CAC), cama de aviário orgânica (CAO) e cama de cavalo (CC)

Gêneros	CAC	CAO	CC	Total
<i>Enterobacter</i>	5	7	2	10
<i>Escherichia</i>	13	12	11	37
<i>Klebsiella</i>	7	4	10	2
<i>Proteus</i>	6	7	8	21
Total	31	30	31	92

4.4.2 Avaliação da Resistência a Metais Pesados *in vitro*

As cepas bacterianas foram avaliadas quanto ao seu crescimento na presença de diferentes concentrações de cobre, zinco e chumbo pela técnica de microdiluição em placas poliestireno de 96 poços de acordo com metodologia descrita por Wiegand, Hilpert e Hancock (2008), com modificações. As cepas foram cultivadas em caldo Mueller Hinton, a 37 °C por 24 horas. Após o cultivo, a concentração celular dos isolados foi ajustada utilizando o tubo 0,5 da escala de MacFarland correspondente a 1×10^8 UFC.mL⁻¹. Os ensaios foram realizados com um volume total de 100 µL por poço, sendo que em cada poço foi adicionado 97,5% de caldo TSB com diferentes concentrações de soluções de sais e 2,5% de inóculo.

Os sais utilizados foram sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O) nas concentrações 0,3; 0,6; 1,2; 2,4; 4,8 e 9,6 g.L⁻¹, sulfato de zinco heptahidratado (ZnSO₄.7H₂O) nas concentrações 0,18; 0,36; 0,72; 1,44; 2,88 e 5,76 g.L⁻¹ e nitrato de chumbo [Pb(NO₃)₂] nas concentrações de 0,09; 0,18; 0,36; 0,72; 1,44 e 2,88 g.L⁻¹, segundo Silva (2011) com modificações. Também foi utilizado controle positivo para cada isolado bacteriano (TSB sem metal + inóculo bacteriano) e branco para cada concentração dos metais (sem inóculo bacteriano), a fim de garantir a viabilidade dos isolados e que não houve contaminação durante o processo.

As microplacas foram incubadas a 35°C por 24 horas. Após este período, foi determinada a ausência ou presença de crescimento bacteriano. Para isso, foram realizadas duas leituras no espectrofotômetro, sendo uma leitura inicial logo após a inoculação e uma leitura final após 24 horas de incubação.

Baseado no resultado das leituras, o seguinte cálculo foi realizado de acordo com Akinduti et al. (2019) com modificações:

$$\text{Crescimento Bacteriano (\%)} = [(Lf - Li)/(Lf_{CP} - Li_{CP})] \times 100$$

Onde:

Lf = leitura final dos poços contendo meio de cultura, metal e o microrganismo;

L_i = leitura inicial dos poços contendo meio de cultura, metal e o microrganismo;

L_{fCP} = leitura final dos poços contendo o controle positivo;

L_{iCP} = leitura inicial dos poços contendo o controle positivo.

Assim, a ausência de crescimento bacteriano foi considerada quando o valor obtido foi menor ou igual a 5%.

4.5 RESULTADOS

Os isolados bacterianos dos gêneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* e *Proteus*, independente do resíduo animal, apresentaram uma curva de crescimento semelhante nos diferentes sais avaliados, com elevado crescimento bacteriano nas concentrações mais baixas de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo, sendo essas $0,3 \text{ g.L}^{-1}$, $0,18 \text{ g.L}^{-1}$ e $0,09 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente (Figura 1).

Em todos os metais, independente dos gêneros bacterianos avaliados, observa-se inicialmente um declínio do crescimento bacteriano à medida que aumenta a concentração dos sais, seguida pela retomada do crescimento nas concentrações posteriores a de menor crescimento ($9,6 \text{ g.L}^{-1}$ de sulfato de cobre, $5,76 \text{ g.L}^{-1}$ de sulfato de zinco e $2,88 \text{ g.L}^{-1}$ de nitrato de chumbo), exceto para o gênero *Proteus* que apresentou menor crescimento dos isolados já na maior concentração de sulfato de zinco avaliada ($5,76 \text{ g.L}^{-1}$).

A maioria dos isolados de *Enterobacter* e *Proteus* não apresentaram crescimento bacteriano na concentração de $2,4 \text{ g.L}^{-1}$ de sulfato de cobre, enquanto para os isolados dos gêneros *Escherichia* e *Klebsiella*, essa estagnação ocorreu na de $4,8 \text{ g.L}^{-1}$ (Tabela 2). Vale ressaltar que para a maioria dos isolados destes gêneros, não foi possível detectar uma concentração de sulfato de cobre capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano.

Em relação ao sulfato de zinco, os isolados de *Enterobacter* não apresentaram crescimento a partir da concentração $0,72 \text{ g.L}^{-1}$, sendo a concentração de $1,44 \text{ g.L}^{-1}$ mais eficaz na inibição do crescimento, independente da origem dos isolados. A maioria dos isolados do gênero *Escherichia*, independente da origem, e isolados de *Klebsiella* da CAC, apresentaram ausência de crescimento na concentração de $2,88 \text{ g.L}^{-1}$ deste metal, enquanto a maioria dos isolados do gênero *Klebsiella* da CAO e CC apresentaram crescimento até mesmo na maior concentração testada, ou seja, em $5,76 \text{ g.L}^{-1}$ de sulfato de zinco. Mesmo comportamento foi observado para os isolados de *Proteus*, independente da origem.

No nitrato de chumbo, todos os isolados dos gêneros *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Proteus*, independente da origem, e os isolados de *Escherichia* da CAC, apresentaram crescimento bacteriano em todas as concentrações avaliadas, incluindo até mesmo a maior concentração ($2,88 \text{ g.L}^{-1}$). Dos isolados de *Escherichia* provenientes da CAO, apenas 25% (3/12) apresentaram ausência de crescimento na concentração de $0,72 \text{ g.L}^{-1}$. O mesmo ocorreu para 9%, 18% e 18% dos isolados da CC nas concentrações de $0,18 \text{ g.L}^{-1}$, $0,36 \text{ g.L}^{-1}$ e $0,72 \text{ g.L}^{-1}$ de nitrato de chumbo, respectivamente. Todos os outros isolados provenientes da CAO e CC apresentaram crescimento na maior concentração testada de nitrato de chumbo.

De maneira geral, em relação a origem dos isolados, foi possível observar comportamento semelhante entre as cepas bacterianas isoladas de CAO, CAC e CC (Figura 2). As concentrações $2,4 \text{ g.L}^{-1}$ de sulfato de cobre e $2,88 \text{ g.L}^{-1}$ de sulfato de zinco foram as mais eficazes no que diz respeito a redução do crescimento bacteriano, enquanto no nitrato de chumbo não houve nenhuma concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano. No entanto, independente do metal, houve crescimento bacteriano nas maiores concentrações testadas, com destaque para os isolados provenientes da CAC no sulfato de cobre e nitrato de chumbo e, os isolados provenientes da CC no sulfato de zinco.

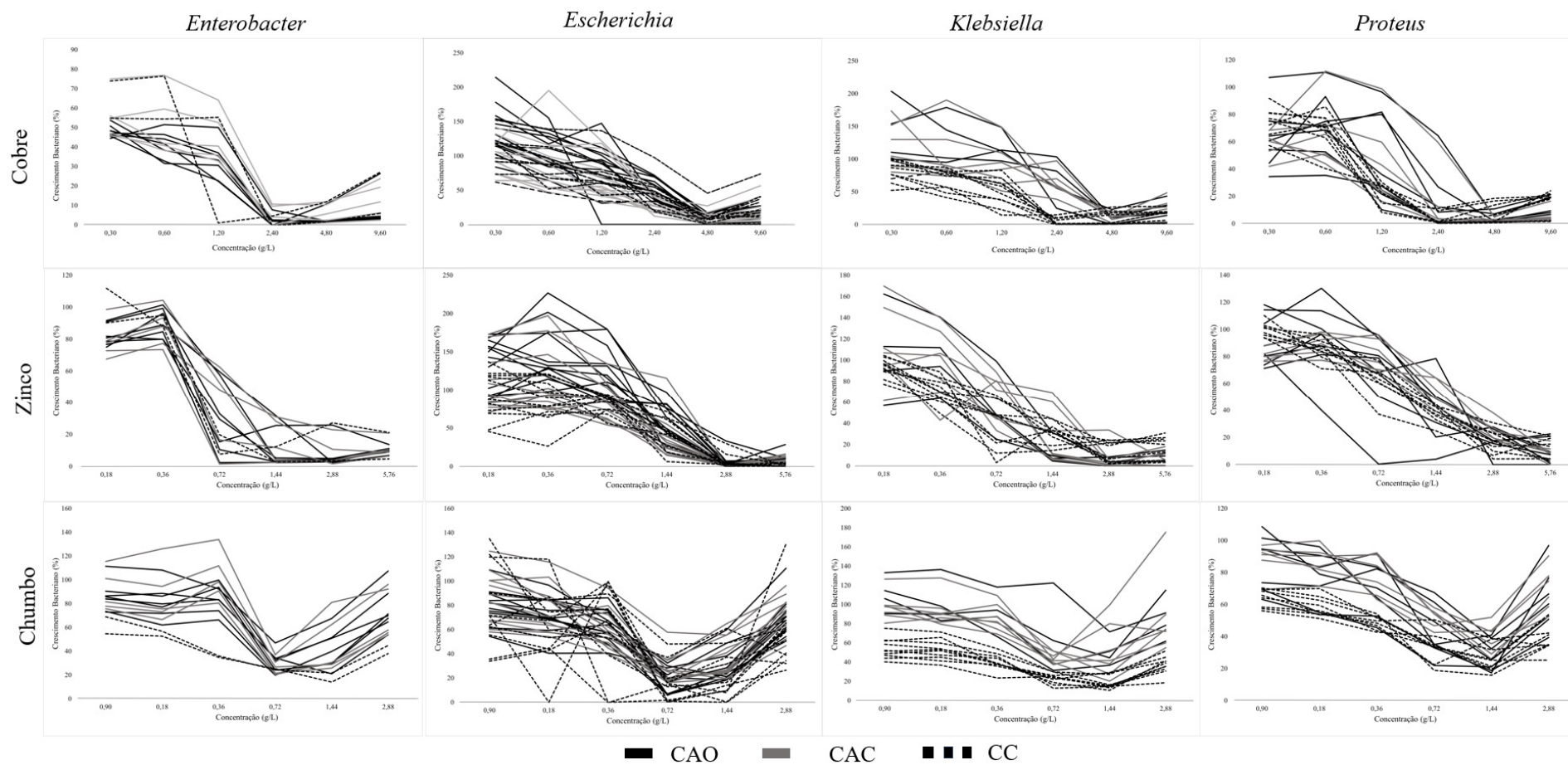


Figura 1. Curva de crescimento bacteriano de isolados provenientes de cama de cavalo (CC) e camas de aviário convencional (CAC) e orgânica (CAO) em diferentes concentrações de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo.

Tabela 2. Percentual de isolados provenientes de cama de cavalo (CC) e camas de aviário convencional (CAC) e orgânica (CAO) que apresentou ausência de crescimento bacteriano em diferentes concentrações de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo

	Nº	Origem	Concentração em g.L ⁻¹ de cobre					
			0,3	0,6	1,2	2,4	4,8	9,6
<i>Enterobacter</i>	5	CAC	0	0	0	60	0	0
	7	CAO	0	0	0	86	14	0
	2	CC	0	0	50	50	0	0
<i>Escherichia</i>	13	CAC	0	0	0	0	23	0
	12	CAO	0	0	0	0	17	0
	11	CC	0	0	0	0	27	0
<i>Klebsiella</i>	7	CAC	0	0	0	14	15	0
	4	CAO	0	0	0	0	25	0
	10	CC	0	0	0	60	0	0
<i>Proteus</i>	6	CAC	0	0	0	67	33	0
	7	CAO	0	0	0	43	29	0
	8	CC	0	0	0	75	0	0
	Nº	Origem	Concentração em g.L ⁻¹ de zinco					
			0,18	0,36	0,72	1,44	2,88	5,76
<i>Enterobacter</i>	5	CAC	0	0	20	20	20	0
	7	CAO	0	0	14	58	14	0
	2	CC	0	0	0	50	0	0
<i>Escherichia</i>	13	CAC	0	0	0	0	100	0
	12	CAO	0	0	0	0	83	0
	11	CC	0	0	0	0	82	18
<i>Klebsiella</i>	7	CAC	0	0	0	14	58	14
	4	CAO	0	0	0	0	33	0
	10	CC	0	0	10	0	30	0
<i>Proteus</i>	6	CAC	0	0	0	0	0	17
	7	CAO	0	0	15	0	14	14
	8	CC	0	0	0	0	13	38
	Nº	Origem	Concentração em g.L ⁻¹ de chumbo					
			0,09	0,18	0,36	0,72	1,44	2,88
<i>Enterobacter</i>	5	CAC	0	0	0	0	0	0
	7	CAO	0	0	0	0	0	0
	2	CC	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia</i>	13	CAC	0	0	0	0	0	0
	12	CAO	0	0	0	25	0	0
	11	CC	0	9	18	18	0	0
<i>Klebsiella</i>	7	CAC	0	0	0	0	0	0
	4	CAO	0	0	0	0	0	0
	10	CC	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus</i>	6	CAC	0	0	0	0	0	0
	7	CAO	0	0	0	0	0	0
	8	CC	0	0	0	0	0	0

Nº = Quantidade de isolados

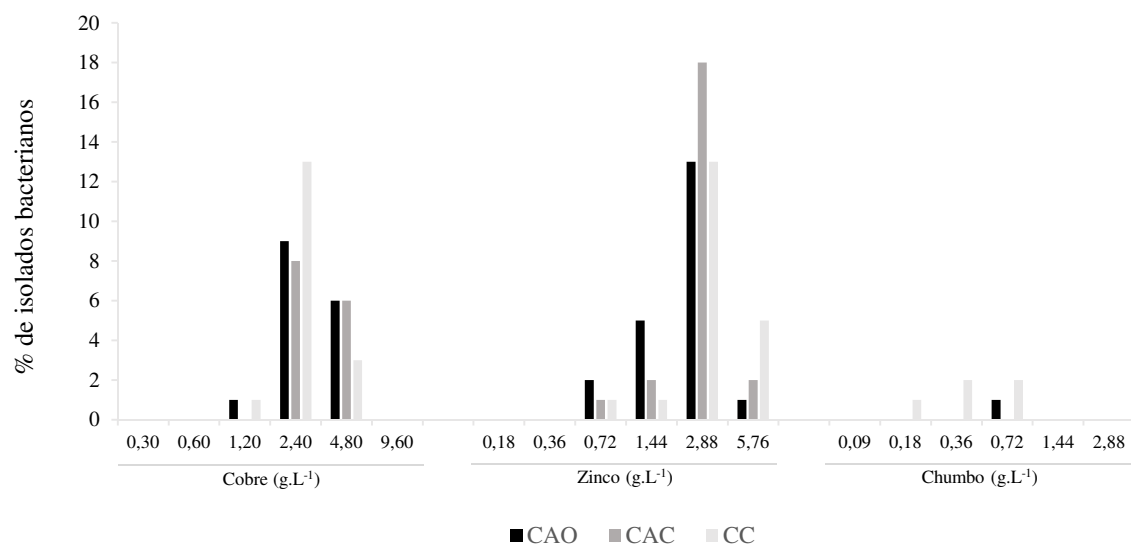


Figura 2. Percentagem de isolados bacterianos provenientes de cama de cavalo (CC) e camas de aviário convencional (CAC) e orgânica (CAO) que apresentaram inibição de crescimento por concentração de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo.

4.6 DISCUSSÃO

A introdução de metais pesados no ambiente, em diferentes formas, pode ocasionar graves prejuízos ao ecossistema do solo, alterando significativamente a comunidade microbiana presente e, conseqüentemente, sua funcionalidade. Esses metais geralmente exercem uma ação inibitória sobre os microrganismos, bloqueando grupos funcionais essenciais, substituindo íons metálicos importantes ou alterando as conformações ativas de moléculas biológicas (ACIOLY, 2014). No entanto, os microrganismos do solo são particularmente sensíveis às mudanças nos conteúdos de metais pesados, pois conseguem responder e se adaptar rapidamente ao estresse causado por esses metais (GILLER; WITTER; MCGRATH, 1998), inclusive, são frequentemente utilizados na remediação de ambientes contaminados com metais pesados (DELANGIZ et al., 2020; TAREKEGN; SALILIH; ISHETU, 2020; ATUCHIN et al., 2023). Considerando que esses microrganismos realizam uma grande quantidade de serviços ecossistêmicos e desempenham um papel crucial na condução de processos ecológicos importantes nos solos, como a ciclagem de nutrientes, é importante entender os perfis de resistência dessas bactérias frente a diferentes metais pesados.

Os gêneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* e *Proteus* apresentaram elevado crescimento bacteriano nas menores concentrações de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo (Figura 1). O cobre e o zinco são micronutrientes essenciais para a saúde de todos os organismos vivos (SHI et al., 2021; PATIL et al., 2023). Nas bactérias, esses metais desempenham papéis importantes como cofatores enzimáticos e participam de várias vias metabólicas (BARON, 1996; WAITES et al., 2009). Dessa forma, em baixas concentrações, esses metais atuaram como aditivo/nutriente para o desenvolvimento das bactérias.

O chumbo, por sua vez, é considerado um metal não essencial por ainda não possuir função biológica estabelecida, sendo sua acumulação bastante prejudicial para o bom funcionamento do organismo (ROMERO-ESTÉVEZ; YÁNEZ-JÁCOME; NAVARRETE, 2023). Apesar disso, no presente estudo foi utilizado o nitrato de chumbo como fonte de chumbo, um sal que se dissocia em meio aquoso (GONSALVES et al., 2013). Durante essa dissociação, um dos íons liberados é o nitrato, uma das principais formas de nitrogênio inorgânico utilizadas para o metabolismo microbiano. O nitrogênio, por sua vez, é um macronutriente crucial para todos os organismos, pois desempenha um papel fundamental na síntese de proteínas, enzimas e ácidos nucleicos (LOURENCE, 2005). Portanto, acredita-se que esse aporte adicional de nitrogênio no meio tenha favorecido o crescimento bacteriano nas concentrações mais baixas de chumbo, mascarando os efeitos tóxicos do chumbo.

Em todos os metais, independente dos gêneros bacterianos avaliados, observa-se inicialmente um declínio do crescimento bacteriano à medida que aumenta a concentração dos sais, seguida pela retomada do crescimento (Figura 1). Tal redução inicial ocorreu provavelmente devido aos efeitos tóxicos das altas concentrações dos metais pesados às células dos organismos, causando-lhes danos letais (BARON, 1996; ROSEN, 1996; WAITES et al., 2009; SILVA et al., 2014). Já o aumento no crescimento bacteriano nas concentrações posteriores a de menor crescimento pode estar relacionado a precipitação do metal, tornando-o indisponível no meio. À medida que maiores quantidades de sais contendo metal são adicionadas ao meio, ocorre um aumento na formação de precipitados. Essa precipitação é um processo químico em que íons metálicos dissolvidos em solução reagem com outros íons ou compostos, resultando na formação de sólidos insolúveis. Assim, quanto maior for a disponibilidade de íons metálicos na solução, maior será a intensidade da reação de precipitação pois o produto da atividade iônica ultrapassa o produto da solubilidade (SHEORAN; SHEORAN, 2006; BLAIS et al., 2008). Para o sulfato de cobre e zinco, tem-se ainda a presença do enxofre na composição desses sais. À medida que aumenta as concentrações, ocorre a precipitação dos metais, enquanto o enxofre continua disponível na solução, sendo este um

macronutriente essencial para o desenvolvimento dos microrganismos por atuar na síntese de proteínas e como constituinte de várias coenzimas (WU et al., 2021).

A maioria das bactérias, independente do gênero e da origem destes isolados, apresentaram crescimento em todas as concentrações de nitrato de chumbo testadas (Tabela 2). Este comportamento pode ser explicado por duas hipóteses: i) a formação de precipitados na solução, que ocorreu em todas as concentrações de nitrato de chumbo, pode ter tornado o metal indisponível no meio, reduzindo a interação do íon metálico com as células bacterianas durante os ensaios (CABRAL et al., 2013). Sabe-se que a solubilidade e a biodisponibilidade do chumbo são reduzidas na presença de fósforo e, no presente estudo, foi utilizado o caldo TSB (Tryptone Soya Broth, Himedia®, Brasil), que possui em sua composição, o fósforo na forma de *hidrogenofosfato* dipotássico. Para evitar a reação do chumbo com o fósforo do meio de cultura e, conseqüentemente, a formação de precipitados, seria necessário ajustar o pH da solução para 3,0. No entanto, isso limitaria o crescimento de uma grande quantidade de microrganismos, considerando que o pH ótimo encontra-se entre 6,5 e 7,5 (FRANCO; LANDGRAF, 2008); ou ii) as bactérias apresentaram, de fato, elevada resistência bacteriana ao chumbo. Os isolados bacterianos avaliados no presente estudo são provenientes da compostagem de resíduos animais e, de acordo com Heck et al. (2015), durante esse processo, pode ocorrer o aumento das concentrações desses metais, considerando que eles não são degradados ao longo do processo, e, conseqüentemente, maior é a probabilidade de bactérias se tornarem resistentes a esses metais. Levando em consideração a segunda hipótese, especula-se ainda a possibilidade destes isolados bacterianos apresentarem capacidade de remediar compostos tóxicos do ambiente. No entanto, se faz necessários mais estudos em relação a esta aplicação.

Em relação a origem, elevada resistência aos sais contendo metais pesados foi observada nos isolados de cama de cavalo e cama de aviário provenientes dos sistemas orgânico e convencional de produção (Figura 2). Um estudo desenvolvido por Silva (2011), ao avaliar a resistência a metais pesados de bactérias isoladas da compostagem de resíduos sólidos orgânicos, também detectou isolados dos gêneros *Escherichia* e *Enterobacter* com alto grau de resistência a zinco, cobre e chumbo. Tal fato já era esperado para os isolados provenientes do sistema de produção animal convencional pelo uso frequente de metais como aditivos alimentares com o intuito de obter crescimento rápido e controle de doenças devido ao aumento da imunomodulação nos animais alimentados (ZHANG et al., 2012; MAZHAR et al., 2021).

Na avicultura orgânica, de acordo com o anexo III da Portaria 52/2021, o uso de substâncias como óxidos cúpricos, óxidos de zinco, sulfato de cobre pentahidratado e sulfato de zinco monohidratado são permitidas e, a presença dessas substâncias no sistema gastrointestinal dos animais pode selecionar a resistência bacteriana a metais pesados. Além disso, nesse sistema de produção é permitido o uso de animais aquáticos como parte da alimentação das aves e, alguns desses animais ofertados como alimento, como o mexilhão dourado, podem apresentar um potencial risco de contaminação por metais pesados para as aves (BAYERLE et al., 2015).

Dessa forma, é importante considerar que os níveis de tolerância aos metais avaliados podem variar entre os diferentes gêneros bacterianos e, até mesmo entre os isolados dentro de um mesmo gênero. Todas essas informações são relevantes para elucidar a problemática que é a resistência bacteriana a metais e, podem ter implicações na avaliação da segurança ambiental e da saúde pública em relação a presença de metais pesados (DEFALCO, 2022). Vale ressaltar ainda que as bactérias avaliadas no presente estudo são provenientes de resíduos animais e, estes por sua vez, são utilizados na agricultura como fertilizantes orgânicos. Dessa forma, tal prática incrementa patógenos (FERREIRA et al., 2021) e determinantes de resistência a antimicrobianos (FERREIRA et al., 2023; FERREIRA et al., 2024).

Outro ponto importante é que a resistência bacteriana a metais pesados se correlaciona com a resistência antimicrobiana, (BAKER-AUSTIN et al., 2006), classificada como uma

enfermidade emergente e uma das três maiores ameaças à saúde pública no século XXI, resultando na seleção indireta de bactérias resistentes a antimicrobianos e promovendo a manutenção e propagação de genes de resistência (PIRELA; SUÁREZ; VARGAS, 2014). Isso acontece porque os microrganismos ficam sujeitos a co-seleção de resistência a antimicrobianos e metais pesados, o que pode ocorrer por mecanismos de co-resistência ou resistência cruzada (IMRAM; DAS; NAIK, 2019). A co-resistência ocorre quando os genes de resistência a metais pesados e os genes de resistência a antimicrobianos estão localizados no mesmo elemento genético e, a resistência cruzada é quando um único mecanismo é responsável pela resistência a antimicrobianos e a metais pesados (PAL et al., 2017; POOLE, 2017).

Considerando-se ainda que os níveis antropogênicos de metais pesados são maiores em várias ordens de magnitude do que os níveis de antimicrobianos, além do fato dos íons metálicos não serem sujeitos a degradação (PRIYA et al., 2022), estes têm potencial para representar uma pressão de seleção a longo prazo para evolução de resistência aos antimicrobianos em microrganismos (STEPANAUSKAS et al., 2005). Isto pode favorecer maior persistência dos genes em ambientes contaminados com metal pesado, mesmo sem a presença de antimicrobianos (ALONSO; SANCHEZ; MARTINEZ, 2001), aumentando os riscos de uma maior disseminação.

Portanto, com base nas informações levantadas neste trabalho, reforçamos a importância e a urgência da realização de mais pesquisas relacionadas a bactérias provenientes de resíduos animais, uma vez que há várias lacunas que precisam ser preenchidas, como i) a identificação de genes de resistência a antimicrobianos; ii) a co-seleção de resistência a metais pesados e antimicrobianos; iii) a presença de elementos genéticos móveis; iv) os mecanismos de transferência dessas bactérias para o solo; e, v) sua persistência no ambiente. Estas informações serão cruciais para elucidar o papel dos resíduos animais como reservatório e fonte de disseminação de resistência a metais pesados e quais os riscos que representam para a saúde pública.

4.7 CONCLUSÕES

Todos os gêneros bacterianos, independente do resíduo animal, apresentaram curva de crescimento semelhante ao longo das concentrações crescentes de sulfato de cobre, sulfato de zinco e nitrato de chumbo.

Baixas concentrações de alguns metais pesados como cobre e zinco podem servir como micronutrientes e assim favorecer o crescimento bacteriano.

A maioria dos isolados apresentaram elevada resistência aos metais pesados.

Tanto os resíduos provenientes do sistema de produção convencional, quanto o orgânico, podem conter bactérias resistentes a metais pesados, conferindo assim um potencial risco ambiental e à saúde pública.

5. CAPÍTULO IV

INFLUÊNCIA DE METAIS PESADOS NA RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM BACTÉRIAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS ANIMAIS

5.1 RESUMO

A resistência a antimicrobianos é um dos principais desafios para a saúde pública global, e sua associação com metais pesados, tem recebido crescente atenção da comunidade científica. Elementos como chumbo, cobre e zinco, amplamente encontrados em ambientes agrícolas, podem atuar como agentes seletivos, favorecendo a persistência da resistência. Nesse contexto, este estudo busca avaliar como os metais pesados influenciam a resistência a antimicrobianos em bactérias isoladas de resíduos animais. Cento e duas cepas bacterianas, isoladas durante a compostagem de cama de cavalo e camas de aviário provenientes dos sistemas orgânico e convencional de produção, foram avaliadas quanto à resistência a antimicrobianos na presença e ausência de cobre, chumbo e zinco, utilizando o método de difusão em disco. A maioria dos isolados bacterianos apresentaram-se sensíveis aos antimicrobianos na ausência e presença dos metais pesados, enquanto uma menor proporção manteve a resistência na presença dos metais. Contudo, em alguns isolados, observou-se uma alteração no perfil de sensibilidade ou resistência quando expostos aos metais pesados. No meio contendo zinco, especificamente, isso ocorreu em maior proporção. Dentre as espécies bacterianas, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter asburiae* e *Enterobacter cloacae* destacaram-se por apresentarem mudanças nos perfis de resistência ou sensibilidade a uma maior quantidade de antimicrobianos em resposta à exposição aos metais pesados. Dessa forma, os resultados do presente estudo contribuem para uma melhor compreensão da relação entre os metais pesados e a resistência a antimicrobianos. Os conhecimentos gerados são fundamentais para subsidiar o desenvolvimento de estratégias eficazes que visem reduzir os impactos da resistência antimicrobiana na saúde humana, animal e no meio ambiente.

Palavras-chave: Contaminação ambiental. Fertilizante orgânico. Impacto ambiental. Saúde Única.

5.2 ABSTRACT

Antimicrobial resistance is one of the main challenges for global public health, and its association with heavy metals has received increasing attention from the scientific community. Elements such as lead, copper, and zinc, which are widely found in agricultural environments, can act as selective agents, promoting the persistence of resistance. In this context, this study aims to evaluate how heavy metals influence antimicrobial resistance in bacteria isolated from animal waste. One hundred and two bacterial strains, isolated during the composting of horse manure and poultry litter from organic and conventional production systems, were assessed for antimicrobial resistance in the presence and absence of copper, lead, and zinc, using the disk diffusion method. Most bacterial isolates were sensitive to antimicrobials in both the absence and presence of heavy metals, while a smaller proportion maintained resistance in the presence of metals. However, in some isolates, changes in sensitivity or resistance profiles were observed when exposed to heavy metals. Specifically, in the medium containing zinc, this change occurred to a greater extent. Among the bacterial species, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter asburiae*, and *Enterobacter cloacae* were notable for exhibiting changes in resistance or sensitivity profiles to a greater number of antimicrobials in response to exposure to heavy metals. Thus, the results of this study contribute to a better understanding of the relationship between heavy metals and antimicrobial resistance. The knowledge generated is essential to support the development of effective strategies aimed at reducing the impacts of antimicrobial resistance on human and animal health, as well as on the environment.

Key words: Environmental contamination. Organic fertilizer. Environmental impact. One health.

5.3 INTRODUÇÃO

Resíduos provenientes da produção animal são amplamente utilizados na agricultura como fertilizantes orgânicos, sendo essa prática considerada a principal rota de manejo e destinação desse material no Brasil e no mundo. Quando aplicados no solo de forma segura e de acordo com critérios agronômicos, esses resíduos podem promover o aumento da produtividade agrícola, a melhoria da qualidade do solo, e substituir de maneira eficiente os fertilizantes minerais, reduzindo os custos de produção na agricultura (NICOLOSO; LOURENZI; BRUNETTO, 2024).

Apesar disso, os resíduos animais podem conter diversos contaminantes, incluindo microrganismos patogênicos, metais pesados, genes que conferem resistência a antimicrobianos, bactérias resistentes e resíduos de antimicrobianos e outros medicamentos que não foram completamente metabolizados pelo organismo do animal (CHIESA et al., 2015; FERREIRA et al., 2021; FERREIRA et al., 2023). Dessa forma, se não manejados adequadamente podem gerar sérios impactos ambientais, como a emissão de gases de efeito estufa, lixiviação e escoamento superficial de nutrientes, contaminação do solo, além de contribuir para o fenômeno da resistência a antimicrobianos.

Quando expostas com frequência ao uso de antimicrobianos, bactérias resistentes são selecionadas e isso pode facilitar a transferência de genes de resistência para microrganismos não patogênicos e bactérias comensais da microbiota intestinal, servindo como um reservatório natural de microrganismos resistentes a antimicrobianos, e constituindo um grave potencial de ameaça para a saúde pública (AMINOV; GARRIGUES-JEANJEA; MACKIE, 2001; CHOPRA; ROBERTS, 2001; BARZA, 2002; WEGENER, 2003).

A adaptação microbiana à pressão seletiva dos antimicrobianos compromete a eficácia do tratamento de um número crescente de infecções, o que resulta em um aumento significativo das taxas de morbidade e mortalidade e nos custos dos tratamentos (BATISTA et al., 2024). Devido a isso, a resistência aos antimicrobianos é considerada um dos dez maiores problemas de saúde pública global. Estima-se que, anualmente, cerca de 700 mil óbitos são causados por infecções resultantes de microrganismos resistentes e, projeções indicam que, até 2050, ocorram cerca de 39,1 milhões de mortes por ano (WHO, 2017; NAGHAVI et al., 2024).

A resistência aos antimicrobianos pode ser influenciada por diversos fatores ambientais, incluindo a presença de metais pesados. Embora esses metais, como chumbo, mercúrio, cádmio, cobre e zinco, estejam naturalmente presentes nos solos, práticas agrícolas como o uso de pesticidas, calcários, fertilizantes minerais, fertilizantes orgânicos e outros resíduos aplicados com o objetivo de aumentar a produtividade agrícola podem levar ao seu acúmulo no solo. A exposição contínua a esses metais pode favorecer a seleção de cepas bacterianas resistentes, pois algumas bactérias possuem mecanismos de resistência a metais que também podem ser eficazes contra antimicrobianos.

Diante desse contexto, nosso grupo de pesquisa conduziu um experimento de compostagem utilizando cama de cavalo e cama de aviário orgânica e convencional, ao longo de 125 dias. Durante esse período, cepas bacterianas foram isoladas, identificadas e analisadas de forma independente quanto à resistência a antimicrobianos e a metais pesados. Foram detectadas bactérias patogênicas e com perfis de multirresistência, até mesmo no composto final (FERREIRA et al., 2023), além de uma elevada resistência aos metais pesados cobre, chumbo e zinco (capítulo 3, tese).

No presente trabalho, buscou-se aprofundar o entendimento sobre a relação dos metais pesados e a resistência a antimicrobianos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar como os metais pesados influenciam a resistência antimicrobiana em bactérias isoladas de resíduos animais. Compreender essa relação é importante para a elaboração de estratégias eficazes para

mitigar a disseminação da resistência a antimicrobianos, além de subsidiar a formulação de políticas públicas que visem reduzir os impactos da resistência antimicrobiana na saúde pública e no meio ambiente.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

5.4.1 Origem e Caracterização de Bactérias

Foram utilizadas cento e duas cepas bacterianas isoladas durante o processo de compostagem de cama de cavalo (CC) e camas de aviário provenientes dos sistemas orgânico e convencional (CAO e CAC), conduzido por um período de 125 dias (Apêndice C/Tabela S1) (FERREIRA et al., 2021). Os isolados foram identificados e cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob número A19B0CE.

5.4.2 Teste de Difusão em Meio Sólido

O ensaio de disco difusão em ágar para detecção fenotípica da resistência aos antimicrobianos na presença e ausência de metais pesados foi realizado conforme os padrões estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BRCAST, 2023). As cepas bacterianas, estocadas inicialmente em Brain Heart Infusion (BHI), foram reativadas em meio Eosina Azul de Metileno (EMB), exceto as cepas de *Proteus mirabilis* que foram reativadas em meio ágar CLED, a 37 °C por 24 horas.

Foi preparado um inóculo de cada cepa bacteriana contendo $1,5 \times 10^8$ células.mL⁻¹, ajustados segundo a escala 0,5 de McFarland. Essa suspensão bacteriana (0,1 mL) foi distribuída por toda a superfície de placas contendo ágar Mueller Hinton com e sem metais pesados (cobre, zinco, chumbo), onde foram depositados discos de antimicrobianos (AMC- Amoxicilina+ácido clavulânico, AMP- Ampicilina, ATM- Aztreonam, CPM- Cefepime, CFO- Cefoxitina, CAZ- Ceftazidima, CIP- Ciprofloxacina, GEN- Gentamicina, IMP- Imipenem e SUT- Sulfametoxazol+trimetoprim). A resistência intrínseca de cada espécie bacteriana foi considerada e, nesses casos, o teste com o respectivo antimicrobiano não foi realizado. As concentrações dos metais foram selecionadas a partir dos resultados do capítulo 3, sendo utilizado 0,3 g.L⁻¹ de sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O) e, 0,36 g.L⁻¹ de sulfato de zinco heptahidratado (ZnSO₄.7H₂O) e nitrato de chumbo [Pb(NO₃)₂]. Essas concentrações foram selecionadas por serem anteriores às que resultaram na inibição do crescimento bacteriano.

Após a incubação por 18 horas a 35 °C, os diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano formados ao redor dos discos foram medidos em milímetros (Apêndice C/Tabela S2). Esses valores foram comparados com os pontos de corte estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BRCAST, 2023) para determinar se as bactérias eram sensíveis ou resistentes a cada antimicrobiano, na ausência e presença de cada metal pesado. A partir disso, foi possível analisar a influência dos metais pesados, verificando se as bactérias (i) permaneceram sensíveis, (ii) permaneceram resistentes, (iii) tornaram-se sensíveis ou (iv) tornaram-se resistentes aos antimicrobianos na presença deles.

5.5 RESULTADOS

Os isolados bacterianos apresentaram diferentes respostas frente aos antimicrobianos na presença de chumbo, cobre e zinco, sendo que a maioria permaneceu sensível, tanto na ausência quanto na presença desses metais (Figura 1). Uma menor proporção demonstrou resistência a diferentes antimicrobianos, mantendo esse perfil mesmo na presença dos metais. Contudo, alguns isolados apresentaram mudança no perfil de sensibilidade ou resistência, dependendo do antimicrobiano e do metal avaliado.

No meio contendo chumbo, 9% (7/78), 5% (4/81), 3% (3/99) e 3% (3/102) dos isolados apresentaram resistência a ampicilina, cefoxitina, ciprofloxacina e imipenem, respectivamente, na ausência do metal, mas demonstraram sensibilidade na sua presença. No meio com cobre, 10% (10/101) dos isolados tornaram-se sensíveis a aztreonam e ceftazidima, enquanto 7% (6/81) tornaram-se sensíveis a cefoxitina na presença do metal. Por sua vez, no meio contendo zinco, 12% (12/101) e 7% (7/101) dos isolados, inicialmente resistentes, tornaram-se sensíveis a ceftazidima e cefepime, respectivamente. Além disso, 6% dos isolados adquiriram sensibilidade a cefoxitina (5/81) e aztreonam (6/101) quando expostos ao zinco.

Em relação as bactérias que apresentaram perfil de sensibilidade na ausência do metal e resistência na presença dos metais, observa-se que no meio com chumbo, 5% (4/78) tornaram-se resistentes à ampicilina e 4% à sulfametoxazol+trimetoprim (4/99), gentamicina (4/99) e ceftazidima (4/101). No meio contendo cobre, 13% (10/78) adquiriram resistência à ampicilina, 4% à ciprofloxacina (4/99) e amoxicilina+ácido clavulânico (3/80), e 3% (3/102) ao imipenem. Já no meio com zinco, 62% (63/62), 46% (36/78), 41% (33/80) e 11% (11/99) dos isolados bacterianos, inicialmente sensíveis, tornaram-se resistentes a imipenem, ampicilina, amoxicilina+ácido clavulânico e gentamicina, respectivamente, na presença do metal.

Nenhum isolado bacteriano apresentou mudança no perfil de sensibilidade para resistência a cefoxitina, cefepime e imipenem na presença do chumbo, apenas a mudança de resistência para sensibilidade a estes antimicrobianos (Tabela 1). O mesmo ocorreu no meio com cobre com os antimicrobianos aztreonam, ceftazidima e cefoxitina. Comportamento contrário foi observado para gentamicina na presença de chumbo e cobre, e gentamicina e imipenem na presença de zinco, com destaque para o imipenem que obteve 62% (63/102) de isolados que tornaram-se resistentes quando expostos ao metal. Inclusive, na presença de zinco, isolados de *Pseudomonas aeruginosa* (33%), *Citrobacter freundii* (100%), *Providencia stuartii* (100%) e *Acinetobacter baumannii* (100%) se tornaram resistentes apenas a imipenem.

Dentre as espécies bacterianas, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter asburiae* e *Enterobacter cloacae* destacaram-se por apresentarem mudanças nos perfis de resistência ou sensibilidade a uma maior quantidade de antimicrobianos em resposta à exposição aos metais pesados (Tabela 1). No meio com chumbo, destaca-se a espécie *E. asburiae*, em que 33% dos isolados tornaram-se sensíveis a amoxicilina+ácido clavulânico e ceftazidima, e 67% tornaram-se resistente a ampicilina na presença do metal. No meio contendo cobre, tem-se também a espécie *E. asburiae*, na qual 33% dos isolados adquiriram sensibilidade ao aztreonam e cefepime e 67% a ceftazidima, e 33% tornaram-se resistentes à ampicilina e à ciprofloxacina, além da espécie *Klebsiella aerogenes* que 33% dos isolados tornaram-se resistentes à gentamicina.



Figura 1. Percentagem de bactérias que permaneceram sensíveis (SS) e resistentes (RR) e que se tornaram sensíveis (RS) e resistentes (SR) aos antimicrobianos na presença de nitrato de chumbo, sulfato de cobre e sulfato de zinco. *Números acima da barra representam o número total de bactérias testadas para cada antimicrobiano. GEN - Gentamicina, AMC - Amoxicilina+ácido clavulânico, AMP - Ampicilina, ATM - Aztreonam, CAZ - Ceftazidima, CFO - Cefoxitina, CPM - Cefepime, IMP - Imipenem, CIP - Ciprofloxacina e SUT - Sulfametoxazol+trimetoprim.

Tabela 1. Percentagem de bactérias que tornaram-se sensíveis (verde) e resistentes (vermelho) aos antimicrobianos na presença de nitrato de chumbo, sulfato de cobre e sulfato de zinco (continuação)

Chumbo																							
Espécie bacteriana	Aminogli		Betalactâ														Fluoro		Sulfona		T	RS	SR
	GEN		AMC		AMP		ATM		CAZ		CFO		CPM		IPM		CIP		SUT				
	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR			
<i>C. freundii</i> (n=1)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0
<i>E. asburiae</i> (n=3)	0	0	33	0	0	67	0	0	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	1	2	
<i>E. cloacae</i> (n=10)	0	0	*	*	*	*	10	0	10	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	7	0	2	
<i>E. kobei</i> (n=1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	
<i>E. coli</i> (n=37)	0	0	2,7	2,7	5,4	0	0	2,7	0	0	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0	10	2	3	
<i>K. aerogenes</i> (n=3)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	
<i>K. pneumoniae</i> (n=16)	0	6,3	0	0	13	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	13	10	3	2	
<i>K. variicola</i> (n=2)	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	
<i>P. mirabilis</i> (n=21)	0	14	0	4,8	14	0	0	4,8	0	19	4,8	0	9,5	0	14	0	14	9,5	9,5	10	6	6	
<i>P. stuartii</i> (n=1)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	
<i>A. baumannii</i> (n=1)	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0	0	0	0	4	0	0	
<i>P. aeruginosa</i> (n=3)	*	*	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	*	*	*	4	0	0	
<i>S. marcescens</i> (n=3)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	

Cobre																							
Espécie bacteriana	Aminogli		Betalactâ														Fluoro		Sulfona		T	RS	SR
	GEN		AMC		AMP		ATM		CAZ		CFO		CPM		IPM		CIP		SUT				
	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR			
<i>C. freundii</i> (n=1)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	
<i>E. asburiae</i> (n=3)	0	0	0	0	0	33	33	0	67	0	0	0	33	0	0	0	0	33	0	10	2	3	
<i>E. cloacae</i> (n=10)	0	0	*	*	*	*	20	0	20	0	*	*	10	0	0	10	10	0	0	7	1	4	
<i>E. kobei</i> (n=1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	
<i>E. coli</i> (n=37)	0	0	2,7	5,4	0	19	0	0	0	0	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0	10	2	2	
<i>K. aerogenes</i> (n=3)	0	33	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	7	1	0	
<i>K. pneumoniae</i> (n=16)	0	0	0	0	0	1	6,3	0	6,3	0	6,3	0	0	6,3	0	0	0	6,3	0	10	2	4	
<i>K. variicola</i> (n=2)	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0		
<i>P. mirabilis</i> (n=21)	0	0	19	4,8	24	4,8	29	0	24	0	19	0	19	0	29	0	4,8	14	4,8	10	4	9	
<i>P. stuartii</i> (n=1)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0		

Tabela 1. Continuação

<i>A. baumannii</i> (n=1)	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0	0	0	0	0	4	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (n=3)	*	*	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	67	*	*	*	*	4	1	0
<i>S. marcescens</i> (n=3)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0

Espécie bacteriana	Zinco																						T	RS	SR
	Aminogli		Betalactâ														Fluoro		Sulfona						
	GEN		AMC		AMP		ATM		CAZ		CFO		CPM		IPM		CIP		SUT						
	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR	RS	SR					
<i>C. freundii</i> (n=1)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	100	0	0	0	0	7	1	0		
<i>E. asburiae</i> (n=3)	0	0	0	0	0	100	33	0	67	0	0	0	33	0	0	100	0	0	0	0	10	2	3		
<i>E. cloacae</i> (n=10)	0	0	*	*	*	*	0	0	10	0	*	*	10	10	0	90	0	10	0	10	7	4	2		
<i>E. kobei</i> (n=1)	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	10	2	0		
<i>E. coli</i> (n=37)	0	0	2,7	81	0	73	0	2,7	2,7	0	0	5,4	0	2,7	0	87	2,7	0	0	0	10	6	3		
<i>K. aerogenes</i> (n=3)	0	33	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	7	1	0		
<i>K. pneumoniae</i> (n=16)	0	13	0	6,3	0	19	0	6,3	6,3	6,3	6,3	0	0	6,3	0	19	0	6,3	0	6,3	10	9	2		
<i>K. variicola</i> (n=2)	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0		
<i>P. mirabilis</i> (n=21)	0	38	4,8	9,5	14	9,5	24	4,8	29	4,8	19	4,8	24	4,8	0	43	0	19	9,5	4,8	10	10	7		
<i>P. stuartii</i> (n=1)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	8	1	0		
<i>A. baumannii</i> (n=1)	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	100	0	0	0	0	3	1	0		
<i>P. aeruginosa</i> (n=3)	*	*	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	100	*	*	*	*	4	1	0		
<i>S. marcescens</i> (n=3)	0	0	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0		

* Não testado. T - Total de antimicrobianos testado para determinada espécie bacteriana. As duas últimas colunas refere-se ao total de antimicrobianos que determinada bactéria apresentou mudança de RS ou SR. Amino= Aminoglicosídeo, Betalac- Betalactâmico, Fluoro- Fluoroquinolona, Sulfo- Sulfonamida. GEN- Gentamicina, AMC- Amoxicilina+ácido clavulânico, AMP- Ampicilina, ATM- Aztreonam, CAZ- Ceftazidima, CFO- Cefoxitina, CPM- Cefepime, IMP- Imipenem, CIP- Ciprofloxacina e SUT- Sulfametoxazol+trimetoprim.

No meio contendo zinco, observa-se uma maior variedade de espécies que apresentaram alterações no perfil de resistência em resposta à presença do metal, com uma maior porcentagem de isolados que se tornaram resistentes ao imipenem. Entre essas espécies destacam-se *C. freundii*, *E. asburie*, *E. cloacae*, *Enterobacter kobei*, *E. coli*, *K. aerogenes*, *P. mirabilis*, *P. stuartii* e *A. baumannii*. No caso de *C. freundii*, todos os isolados adquiriram resistência ao imipenem. Entre os isolados de *E. asburie*, 33% tornaram-se sensíveis ao aztreonam e cefepime, 67% à ceftazidima, e todos tornaram-se resistentes à ampicilina e ao imipenem. Para *E. cloacae*, 90% dos isolados tornaram-se resistentes ao imipenem. Todos os isolados de *Enterobacter kobei* tornaram-se resistentes à ampicilina e ao imipenem. Entre os isolados de *E. coli*, 81% tornaram-se resistentes à amoxicilina+ácido clavulânico, 73% à ampicilina e 87% ao imipenem. Em relação a *K. aerogenes*, 33% dos isolados desenvolveram resistência à gentamicina. Já entre os isolados de *P. mirabilis*, 38% adquiriram resistência à gentamicina e 43% ao imipenem. Por fim, todos os isolados de *P. stuartii* e *A. baumannii* tornaram-se resistentes ao imipenem.

Ainda em relação ao meio contendo o zinco, isolados de *P. mirabilis* (CAO9 e CAO65), *K. pneumoniae* (CC161) e *E. cloacae* (CAO88) se tornaram resistentes a pelo menos três classes de antimicrobianos (3/4, 75%; 3/4, 75%; 4/4, 100% e 3/4, 75%; respectivamente) na presença do metal (Apêndice C/Tabela S3). Nos meios com os demais metais, tal comportamento não ocorreu. No entanto, isolados de *E. coli* (CAC10) e *P. mirabilis* (CC90) que permaneceram resistentes na presença de chumbo, cobre e zinco, também apresentaram resistência a pelo menos três classes de antimicrobianos, sendo elas os betalactâmicos, fluoroquinolonas e sulfonamidas. Mesmo comportamento foi observado para o isolado *P. mirabilis* (CAC66), que apresentou resistência a, no mínimo, três classes de antimicrobianos, independente da presença de chumbo, cobre e zinco. No meio contendo chumbo, esse isolado permaneceu resistente às classes dos aminoglicosídeos, betalactâmicos e sulfonamidas. Já nos meios contendo cobre e zinco, ele permaneceu resistente às quatro classes de antimicrobianos avaliadas.

5.6 DISCUSSÃO

Resíduos provenientes da produção animal, amplamente utilizados na agricultura, podem veicular uma variedade de contaminantes, incluindo determinantes de resistência a antimicrobianos (CHIESA et al., 2015). A resistência antimicrobiana é um fenômeno complexo, influenciado por fatores ambientais, biológicos, sociais e tecnológicos. Entre esses, a presença de metais pesados no ambiente destaca-se como um elemento crítico pois podem desempenhar um papel importante na dinâmica da resistência bacteriana a partir de mecanismos que promovem a seleção de microrganismos resistentes.

Em trabalho anterior, realizado com as mesmas cepas bacterianas analisadas no presente estudo, foi avaliado o perfil de resistência a antimicrobianos, constatando-se que a maioria dos isolados apresentaram-se sensíveis quando expostos aos antimicrobianos (FERREIRA et al., 2023). No entanto, embora apenas uma pequena parcela de isolados tenha demonstrado resistência, foram identificados 30 perfis distintos de resistência antimicrobiana. Os isolados pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, apresentaram elevado percentual de resistência aos antimicrobianos betalactâmicos ampicilina e amoxicilina+ácido clavulâmico. Dentre as espécies isoladas, *Proteus mirabilis* destacou-se por apresentar o maior número de perfis distintos de resistência, totalizando 22 diferentes padrões de resistência antimicrobiana. Além disso, o perfil de multirresistência, caracterizada pela resistência a três ou mais classes de antimicrobianos, foi detectado em 2% (3/158) dos isolados testados, pertencentes às espécies de *Proteus mirabilis* (CAC66) e *Escherichia coli* (CAC10 e CAO166) (FERREIRA et al., 2023).

No presente estudo, a maioria dos isolados bacterianos mantiveram o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos na presença dos metais pesados (Figura 1). A sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos é um aspecto positivo pois indica que os antimicrobianos são eficazes em inibir ou eliminar as bactérias, o que facilita o tratamento de infecções causadas por esses microrganismos. Isso reduz o risco de complicações clínicas e acelera a recuperação do paciente ou do animal em tratamento. Além disso, a sensibilidade bacteriana garante a eficácia dos antimicrobianos disponíveis, retardando o surgimento e a propagação da resistência antimicrobiana (PALMA; TILOCCA; RONCADA, 2020).

Embora a maioria dos isolados tenha permanecido sensível, algumas cepas bacterianas, inicialmente resistentes na ausência dos metais, tornaram-se sensíveis a determinados antimicrobianos na presença de chumbo, cobre e zinco (Figura 1 e Tabela 1). A exposição a metais pesados é mais comumente associada à seleção de resistência, mas, ela também pode, em determinadas condições, levar à perda ou redução da resistência a antimicrobianos. Esse fenômeno é mais provável quando há um custo adaptativo elevado, interferência em mecanismos de resistência ou perda de plasmídeos carregando genes de resistência (ALONSO; SÁNCHEZ; MARTÍNEZ, 2001; BAKER-AUSTIN et al., 2006; PAL et al., 2017). Isso demonstra a complexidade das interações entre metais pesados, antimicrobianos e as bactérias no ambiente.

As cepas bacterianas (CAC10, CAC66 e CC90) mantiveram a resistência a pelo menos três classes de antimicrobianos, na presença de chumbo, cobre e zinco (Apêndice C/Tabela S3). No entanto, foram identificados isolados de *P. mirabilis* (CAO9, CAC65), *Klebsiella pneumoniae* (CC161) e *Enterobacter cloacae* (CAO88) que tornaram-se resistentes a pelo menos três classes de antimicrobianos exclusivamente na presença de zinco, sendo assim, considerados multirresistentes em condições de exposição a esse metal.

A exposição a metais pesados pode desencadear a ativação de mecanismos de defesa bacterianos, como a superexpressão de bombas de efluxo, responsáveis por expelir substâncias tóxicas, incluindo metais e antimicrobianos, para fora da célula (IMRAN; DAS; NAIK, 2019; NGUYEN; HUGIE; KILE, 2019). Além disso, reguladores transcricionais, como MerR e

CzcD, podem ser ativados, promovendo a expressão de genes que conferem resistência a metais e, simultaneamente, tolerância a antimicrobianos. Tal exposição também pode levar a alterações na composição e fluidez da membrana celular (DUPONT; GRASS; RENSING, 2011; RAMOS-ZÚÑIGA; BRUNA; PÉREZ-DONOSO, 2023), que, combinadas à atividade das bombas de efluxo, favorecem a remoção ativa de antimicrobianos. Adicionalmente, a presença de metais pesados pode induzir a formação de biofilmes, estruturas que oferecem proteção às bactérias contra antimicrobianos e metais devido à barreira física e ao microambiente heterogêneo que criam. Todos esses mecanismos podem coexistir em uma mesma cepa bacteriana, conferindo resistência a diferentes classes de antimicrobianos e gerando um perfil de multirresistência (BLAIR et al., 2015; MUNITA, ARIAS, 2016), como observado no presente estudo.

O perfil de multirresistência representa um sério risco à saúde pública por reduzir significativamente as opções terapêuticas disponíveis em um processo infeccioso, tornando o tratamento mais complexo, prolongado e oneroso (MAGIORAKOS et al., 2012; MIRYALA; ANBARASU; RAMAIAH, 2021). Vale ressaltar ainda que esses isolados bacterianos são provenientes de resíduos animais, os quais são amplamente utilizados na agricultura como fertilizantes orgânicos. Assim, se não tratados adequadamente, esses resíduos podem transferir esses microrganismos para o solo e, conseqüentemente, para os alimentos destinados ao consumo humano, representando um potencial risco à saúde pública (FERREIRA et al., 2023).

A maioria dos isolados tornou-se resistentes aos betalactâmicos ampicilina e imipenem na presença do zinco (Figura 1 e Tabela 1). Esta resistência pode estar associada à produção de enzimas conhecidas como metalobetalactamases, que utilizam íons metálicos, geralmente Zn^{2+} , como cofatores de ativação para a hidrólise da maioria dos antimicrobianos betalactâmicos (BUSH, 1998). A presença de zinco no meio pode não apenas induzir a expressão de genes que codificam essas enzimas, mas também estabilizar sua estrutura e aumentar sua atividade enzimática (RIVIÈRE et al., 2020).

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* se tornou resistente ao imipenem na presença de cobre (67%, 2/2) e zinco (100%, 3/3). De acordo com Assef e Neto (2020), é comum essa espécie apresentar resistência ao imipenem devido a mutações no gene que codifica a porina OprD, uma proteína de membrana externa essencial para a entrada desse antimicrobiano na célula bacteriana. Além disso, o sistema de efluxo MexAB-OprM, característico dessa espécie, pode, quando hiperexpresso, conferir resistência não apenas aos β -lactâmicos, mas também a quinolonas, tetraciclina e cloranfenicol (BLAIR; RICHMOND; PIDDOCK, 2014). Como mencionado anteriormente, os metais pesados podem induzir alterações na permeabilidade da membrana celular ao antimicrobiano, incluindo a redução na expressão ou modificação das porinas, além de ativar bombas de efluxo (DUPONT; GRASS; RENSING, 2011).

Esses efeitos não se limitam às mudanças fisiológicas nas bactérias, mas também destacam o papel crucial dos metais pesados na manutenção da resistência no ambiente. Sabe-se que, quando presentes no ambiente, os metais pesados podem contribuir para a persistência da resistência a antimicrobianos. Isso ocorre devido a pressão seletiva exercida pelas propriedades tóxicas desses metais, que eliminam organismos suscetíveis e permitem a sobrevivência apenas das bactérias adaptadas à toxicidade. Muitas vezes, essas bactérias também carregam genes que conferem resistência a antimicrobianos. Assim, a exposição a metais favorece a manutenção e proliferação de bactérias resistentes. Nesse sentido, os microrganismos ficam sujeitos a co-seleção da resistência a antimicrobianos e metais pesados, que pode ocorrer por meio de mecanismos como co-resistência, resistência cruzada ou co-regulação.

A co-resistência ocorre devido à localização frequente de genes que conferem resistência a metais pesados e antimicrobianos nos mesmos elementos genéticos, como plasmídeos, transposons ou integrons (REBELO et al., 2023). Já a resistência cruzada é observada quando um único mecanismo confere resistência a metais e antimicrobianos

simultaneamente, como as bombas de efluxo, que são proteínas de membrana que excretam substâncias tóxicas, como metais pesados e antimicrobianos, para fora da célula bacteriana (CHAPMAN, 2003; MARTINEZ et al., 2009). E, por fim, tem-se a co-regulação que ocorre quando os mecanismos genéticos que conferem resistência a esses agentes são ativados simultaneamente ou regulados por vias metabólicas comuns (PAL et al., 2017). De acordo com Rebele et al. (2023), apesar do amplo uso e/ou presença de metais pesados no ambiente, e da vasta literatura mostrando sua interação com determinantes de resistência a antimicrobianos, seu papel na persistência e disseminação dessa resistência continua sendo um tópico discutível que exige análises e reflexões mais aprofundadas.

Assim, os resultados obtidos confirmam que a presença de metais pesados pode influenciar o fenômeno da resistência a antimicrobianos. Os metais pesados exercem uma pressão de seleção de longa data, generalizada e recalcitrante, com relevância tanto ambiental quanto clínica que, por seleção indireta, contribui significativamente para a manutenção e disseminação de determinantes de resistência a antimicrobianos (LANNA et al., 2022). Em solos agrícolas, o acúmulo dos teores de metais pesados é resultado da deposição atmosférica e da aplicação de agrotóxicos, resíduos orgânicos e inorgânicos urbanos e industriais, fertilizantes e corretivos (JUNIOR; LUCHESE; LENZI, 2000). Assim, destaca-se a importância de estratégias voltadas ao controle das atividades humanas no meio agrícola que alteram significativamente as propriedades químicas dos solos, e de trabalhos que contribuem para o entendimento das interações entre contaminantes químicos e microbiológicos, fornecendo subsídios para políticas públicas que integrem saúde ambiental e saúde pública em uma abordagem de Saúde Única.

5.7 CONCLUSÃO

A presença de metais pesados exerce uma influência sobre o comportamento da resistência a antimicrobianos em bactérias isoladas de resíduos animais, promovendo modificações nos perfis de resistência bacteriana. Enquanto algumas cepas mantêm seus padrões iniciais de sensibilidade ou resistência, outras apresentam alterações substanciais. Essas mudanças incluem a aquisição de resistência por bactérias inicialmente sensíveis, bem como a reversão para a sensibilidade em cepas anteriormente resistentes, variando conforme a espécie bacteriana, o antimicrobiano e o metal pesado em questão.

6. CAPÍTULO V

INFLUÊNCIA DO ZINCO NA RESISTÊNCIA A CARBAPENÊMICOS EM BACTÉRIAS PROVENIENTES DE RESÍDUOS ANIMAIS

6.1 RESUMO

A resistência a carbapenêmicos em bactérias tem se tornado uma preocupação crescente na medicina, especialmente devido ao uso limitado desses antimicrobianos como última linha de defesa contra infecções causadas por patógenos resistentes. O zinco, metal essencial para diversos processos biológicos, tem sido identificado como um fator que pode influenciar a resistência bacteriana, incluindo a resistência a carbapenêmicos. A presença de zinco pode influenciar mecanismos de resistência, como a produção de metalobetalactamases (MBLs), responsáveis pela hidrólise dos carbapenêmicos, e a funcionalidade das porinas e das bombas de efluxo, evitando a entrada e o efluxo de antimicrobianos nas células bacterianas. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência do zinco na resistência a carbapenêmicos em bactérias provenientes de resíduos animais e detectar fenotipicamente a produção de carbapenemases dependentes de zinco. Cento e duas cepas bacterianas, isoladas durante o processo de compostagem de cama de cavalo e camas de aviário de sistema convencional e orgânico de produção, foram analisadas por meio de ensaio de disco difusão em ágar para detecção de resistência fenotípica ao imipenem na ausência e presença de sulfato de zinco. Dentre as cepas, 61,8% tornaram-se resistentes ao imipenem na presença do metal, sendo selecionadas para avaliação quanto à resistência ao meropenem. Desses 63 isolados, 25,4% tornaram-se resistentes a meropenem na presença do zinco. As 16 cepas resistentes, pertencentes às espécies *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter kobei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*, foram testadas como potenciais produtoras de MBLs, resultando em quatro isolados positivos para MBLs, sendo as espécies *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter kobei* e *Proteus mirabilis*. Assim, resíduos provenientes da produção animal contêm determinantes de resistência a carbapenêmicos e a presença do zinco pode influenciar na expressão dessa resistência, seja por co-seleção de mecanismos de resistência, como redução da permeabilidade da membrana e/ou bombas de efluxo, ou pela presença de carbapenemases dependentes de zinco, como as metalobetalactamases. Esses resultados sugerem que a interação entre metais, como o zinco, e a resistência a antimicrobianos representa um desafio significativo para o controle de infecções causadas por microrganismos resistentes, principalmente em ambientes agrícolas. Eles também fornecem novas perspectivas para estratégias de controle de resistência, com foco na modulação da presença de metais e no entendimento mais profundo dos mecanismos envolvidos.

Palavras-chave: Betalactâmicos. Cama de aviário. Cama de cavalo. Imipenem. Meropenem. Metal pesado.

6.2 ABSTRACT

Carbapenem resistance in bacteria has become an increasing concern in medicine, especially due to the limited use of these antimicrobials as a last line of defense against infections caused by resistant pathogens. Zinc, an essential metal for several biological processes, has been identified as a factor that can influence bacterial resistance, including carbapenem resistance. The presence of zinc can affect resistance mechanisms, such as the production of metallobeta-lactamases (MBLs), which are responsible for the hydrolysis of carbapenems, as well as the functionality of porins and efflux pumps, preventing the entry and efflux of antimicrobials into bacterial cells. In this context, the objective of this study was to evaluate the influence of zinc on carbapenem resistance in bacteria isolated from animal waste and to phenotypically detect the production of zinc-dependent carbapenemases. One hundred and two bacterial strains, isolated during the composting process of horse litter and poultry litter from both conventional and organic production systems, were analyzed using the disk diffusion method on agar to detect phenotypic resistance to imipenem in the presence and absence of zinc sulfate. Among the strains, 61.8% became resistant to imipenem in the presence of zinc and were selected for further evaluation regarding resistance to meropenem. Of these 63 isolates, 25.4% became resistant to meropenem in the presence of zinc. The 16 resistant strains, belonging to the species *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter kobei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, and *Pseudomonas aeruginosa*, were tested for their potential to produce MBLs, resulting in four isolates being positive for MBL production, specifically *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter kobei*, and *Proteus mirabilis*. Thus, animal production residues contain carbapenem resistance determinants, and the presence of zinc can influence the expression of this resistance, either by co-selection of resistance mechanisms such as reduced membrane permeability and/or efflux pumps, or by the presence of zinc-dependent carbapenemases, such as metallobeta-lactamases. These results suggest that the interaction between metals, such as zinc, and antimicrobial resistance represents a significant challenge for controlling infections caused by resistant microorganisms, particularly in agricultural environments. They also provide new perspectives for resistance control strategies, focusing on modulating the presence of metals and on a deeper understanding of the mechanisms involved.

Key words: Beta-lactams. Poultry litter. Horse litter. Imipenem. Meropenem. Heavy metal.

6.3 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de alimentos de origem animal no mundo, um feito que foi alcançado devido à intensificação dos sistemas de produção. Estratégias como o aumento da densidade de animais por área, o aprimoramento das rações e o uso de antimicrobianos e vacinas desempenham um papel fundamental nesse processo (STELLA et al., 2020; EMBRAPA, 2024). Contudo, essa intensificação gera grandes volumes de resíduos, cuja acumulação no ambiente pode acarretar sérias consequências. Entre as alternativas sustentáveis para a disposição desses resíduos, destaca-se seu uso como fertilizantes orgânicos na agricultura, devido às suas características benéficas ao solo e, consequentemente às plantas. Entretanto, se não manejados adequadamente, esses resíduos podem se tornar veículos de contaminação ambiental, uma vez que podem conter patógenos, metais pesados e determinantes de resistência a antimicrobianos (FERREIRA et al., 2021, FERREIRA et al., 2023).

Agentes antimicrobianos são compostos químicos que possuem a capacidade de matar ou inibir o crescimento de microrganismos, representando um marco na medicina humana e veterinária (MORAES, 2012). Na produção animal, os antimicrobianos são amplamente utilizados para fins terapêuticos, profiláticos e como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho, conhecidos popularmente como promotores de crescimento (STELLA et al., 2020).

Entre as classes de antimicrobianos mais utilizados na produção animal, destacam-se os betalactâmicos, as tetraciclina e as sulfonamidas. Os betalactâmicos, em particular, atuam inibindo a síntese da parede celular bacteriana, e são subdivididos em penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos (SUÁREZ; GUDIOL, 2009). Contudo, apesar de ser uma prática comum para promover o crescimento animal e prevenir doenças, o uso extensivo e, em muitos casos, indiscriminado desses antimicrobianos em ambientes de produção animal tem gerado sérias preocupações quanto ao impacto no meio ambiente e à emergência de bactérias resistentes (LENTZ, 2022; WOA, 2022).

É importante ressaltar que vários betalactâmicos, como os carbapenêmicos e as cefalosporinas de 3^o e 4^a geração, são considerados pela Organização Mundial da Saúde como criticamente importantes, devido à sua relevância no tratamento de infecções bacterianas graves na medicina humana (WHO, 2019). Inclusive, os carbapenêmicos não são utilizados usualmente na produção animal, sendo seu uso restrito para o tratamento de bactérias extremamente resistentes (SOUZA et al., 2020). Mesmo na medicina humana, sua administração deve ser limitada a casos em que outras opções terapêuticas não sejam viáveis (WHO, 2017).

A resistência a antimicrobianos é considerada um desafio global pela Organização Mundial da Saúde, tanto para a saúde humana quanto animal (MARTONE -ROCHA et al., 2023). Este fenômeno compromete a eficácia dos tratamentos de doenças infecciosas, resultando no aumento das taxas de morbidade e mortalidade, além de elevar consideravelmente os custos associados ao tratamento (WHO, 2018). Embora a resistência aos antimicrobianos seja um processo natural dos microrganismos, decorrente de mutações e troca de material genético, a pressão seletiva gerada pelo uso indiscriminado e inadequado desses agentes intensifica e acelera o surgimento de cepas resistentes (VENTOLA, 2015).

Bactérias Gram-negativas possuem diversos mecanismos de resistência a carbapenêmicos, destacando-se a produção de carbapenemases como o mecanismo mais frequentemente detectado em bactérias de importância clínica (QUEENAN; BUSH, 2007; VIEIRA; VIEIRA, 2017). As carbapenemases são enzimas capazes de hidrolisar o anel betalactâmico presente no núcleo dos antimicrobianos dessa classe, inativando-os. Essas enzimas são classificadas em diferentes grupos de acordo com o sistema de classificação proposto por Ambler (1980), sendo os principais tipos detectados em bactérias Gram-negativas

pertencentes às classes A (serino-carbapenemases), B (metalobetalactamases - MBLs) e D (oxacilinases).

As MBLs, pertencentes à classe B, hidrolisam uma ampla gama de betalactâmicos, com exceção dos monobactâmicos, como o aztreonam (KHAN; MARYAM; ZARRILLI, 2017; TAN et al., 2021; RAWSON et al., 2022). Essas enzimas dependem de íons de zinco (Zn^{2+}) em seu sítio ativo para a hidrólise do anel betalactâmico dos antimicrobianos, uma vez que o zinco facilita a ativação de uma molécula de água, que atua como nucleófilo no ataque ao anel betalactâmico (WILAMOWSKI et al., 2022). Além de atuar como cofator essencial, o zinco contribui para a estabilidade estrutural da enzima, estabilizando a conformação do sítio ativo e garantindo sua funcionalidade (GONZÁLEZ et al., 2012). Ele também desempenha um papel crucial na flexibilidade catalítica das MBLs, já que algumas dessas enzimas apresentam dois sítios de ligação para zinco ($Zn1$ e $Zn2$), cuja ocupação pode modular sua atividade, permitindo a degradação de uma ampla gama de betalactâmicos (GONZÁLEZ et al., 2007).

No ambiente agrícola, metais pesados, como o zinco, são utilizados frequentemente em práticas como fertilização do solo e suplementação alimentar de animais, o que pode levar à sua acumulação no solo e na água. Considerando que as metalobetalactamases podem inativar antimicrobianos da classe dos betalactâmicos, incluindo carbapenêmicos, e que o zinco é um cofator essencial para a funcionalidade dessas enzimas, ambientes com altos teores desse metal podem criar condições favoráveis para a seleção de cepas bacterianas resistentes. Isso ocorre porque a exposição contínua a esses metais exerce pressão seletiva, promovendo a sobrevivência de bactérias produtoras de MBLs. Esse cenário levanta preocupações sobre os potenciais impactos para a saúde pública, uma vez que bactérias resistentes podem ser transmitidas aos seres humanos por meio do consumo de alimentos contaminados, contato direto com animais ou pela água.

Em estudo anterior, foi avaliada a influência de chumbo, cobre e zinco na resistência a antimicrobianos em bactérias isoladas de resíduos animais (capítulo 4, tese). Os resultados indicaram que várias bactérias, antes sensíveis, tornaram-se resistentes a diversos antimicrobianos na presença do zinco, com destaque para o imipenem, um carbapenêmico. Considerando que algumas enzimas responsáveis pela degradação de antibióticos, como as metabetalactamases, são dependentes de íons de zinco, surgiu a proposta deste estudo. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do zinco na resistência a carbapenêmicos em bactérias provenientes de resíduos animais e detectar fenotipicamente a produção de carbapenemases dependentes de zinco.

6.4 MATERIAL E MÉTODOS

6.4.1 Origem das Bactérias

Foram isoladas e identificadas cento e duas cepas bacterianas durante o processo de compostagem de cama de aviário convencional (CAC), cama de aviário orgânico (CAO) e cama de cavalo (CC) (FERREIRA et al., 2021) (Apêndice D/Tabela S1). Os isolados identificados foram cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob número A19B0CE.

6.4.2 Teste de Difusão em Meio Sólido

O ensaio de disco difusão em ágar para detecção fenotípica da resistência aos antimicrobianos da classe dos carbapenêmicos na presença de zinco foi realizado conforme os padrões estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BRCAST, 2023). As cepas bacterianas, estocadas inicialmente em Brain Heart Infusion (BHI), foram reativadas em meio Eosina Azul de Metileno (EMB), exceto as cepas de *Proteus mirabilis* que foram reativadas em meio ágar CLED, a 37 °C por 24 horas.

Foi preparado um inóculo de cada cepa bacteriana contendo $1,5 \times 10^8$ células.mL⁻¹, ajustados segundo a escala 0,5 de McFarland. Essa suspensão bacteriana (0,1 mL) foi distribuída por toda a superfície de placas contendo ágar Mueller Hinton com e sem a presença de sulfato de zinco, onde foram depositados discos dos antimicrobianos. A concentração de zinco foi selecionada a partir dos resultados do capítulo 3, sendo utilizado 0,36 g.L⁻¹ de sulfato de zinco heptahidratado (ZnSO₄.7H₂O). Essa concentração foi selecionada por ser anterior à que resultou na inibição do crescimento bacteriano.

Após incubação por 18 horas a 35 °C, os diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano formados ao redor dos discos foram medidos em milímetros. Esses valores foram comparados com os pontos de corte estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BRCAST, 2023) para determinar se as bactérias eram sensíveis ou resistentes a cada antimicrobiano, na ausência e presença do metal pesado. A partir disso, foi possível analisar a influência do zinco, verificando se as bactérias (i) permaneceram sensíveis, (ii) permaneceram resistentes, (iii) tornaram-se sensíveis ou (iv) tornaram-se resistentes aos antimicrobianos na presença dele.

Inicialmente, foi realizada uma triagem, na qual as 102 cepas foram avaliadas quanto à resistência ao imipenem (IMP, 10 µg) na presença e ausência de zinco. Com base nos resultados, foram selecionadas somente as cepas que se tornaram resistentes ao imipenem na presença de zinco para, em seguida, serem avaliadas no teste confirmatório quanto à resistência ao meropenem (MER, 10µg) nas mesmas condições. As cepas que apresentaram resistência a meropenem na presença de zinco foram submetidas a testes fenotípicos para detecção de produção de metalobetalactamase (MBL).

6.4.3 Detecção Fenotípica da Produção de Metalobetalactamases (MBLs)

Para a detecção fenotípica de bactérias produtoras de MBLs foi utilizado o teste de discos com inibidores, conforme instruções da Nota Técnica N° 01 da Anvisa (2013). Discos de meropenem (MER, 10µg) com e sem ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,1 M foram preparados para a realização desse teste. Inicialmente, os discos foram retirados da embalagem e depositados em uma placa estéril. Com o auxílio de uma pipeta, foram

adicionados 10 µL de solução de EDTA 0,1M sobre os discos, que permaneceram em repouso por cerca de 20 minutos antes do uso.

Uma suspensão bacteriana contendo $1,5 \times 10^8$ células.mL⁻¹ foi preparada e ajustada, segundo a escala 0,5 de McFarland. Uma alíquota de 0,1 mL dessa suspensão foi distribuída de forma homogênea por toda a superfície das placas de ágar Mueller Hinton, com e sem a adição de zinco, nas quais foram depositados os discos de meropenem com e sem EDTA. As placas foram incubadas a 35°C por 18 h. Após a incubação, foram aferidos os halos de inibição. Considerou-se positivo para potenciais produtores de metalobetalactamases os isolados que apresentaram uma diferença de ≥ 3 mm (BRCast, 2018) no diâmetro do halo do disco de meropenem com EDTA em relação ao disco sem EDTA.

6.5 RESULTADOS

Os isolados bacterianos apresentaram diferentes respostas frente aos carbapenêmicos na presença de zinco (Tabela 1). No imipenem, a maioria das cepas tornaram-se resistentes (61,8%, 63/102) quando expostas ao metal, enquanto uma menor proporção de isolados mantiveram-se sensíveis (29,4%, 30/102), independente da presença do zinco. Um total de 8,8% (9/102) dos isolados, todos pertencentes à espécie *Proteus mirabilis*, apresentaram resistência a imipenem na ausência de zinco e permaneceram resistentes na presença do metal. Nenhum dos isolados se tornou sensível na presença de zinco em comparação ao controle, ou seja, na ausência do metal.

Tabela 1. Percentagem de bactérias que permaneceram sensíveis (SS) e resistentes (RR) e que se tornaram sensíveis (RS) e resistentes (SR) aos antimicrobianos na presença de sulfato de zinco

	N°	Imipenem				N	Meropenem			
		SS	RR	RS	SR		SS	RR	RS	SR
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	0	0	0	100	1	0	100	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0	0	0	100	1	0	0	0	100
<i>Enterobacter asburiae</i>	3	0	0	0	100	3	33	0	0	67
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	10	0	0	90	9	22	22	11	45
<i>Enterobacter kobei</i>	1	0	0	0	100	1	0	0	0	100
<i>Escherichia coli</i>	37	13	0	0	87	32	88	9	3	0
<i>Klebsiella aerogenes</i>	3	100	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	81	0	0	19	3	0	33	0	67
<i>Klebsiella variicola</i>	2	100	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	21	14	43	0	43	9	22	11	11	56
<i>Providencia stuartii</i>	1	0	0	0	100	1	0	100	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	0	0	0	100	3	0	33	33	33
<i>Serratia marcescens</i>	3	100	0	0	0	0	0	0	0	0
Total de isolados (n)	102	30	9	0	63	63	33	10	4	16
Porcentagem de isolados (%)	100	29,4	8,8	0	61,8	100	52,4	15,9	6,3	25,4

As 63 cepas bacterianas que se tornaram resistentes ao imipenem na presença de zinco foram selecionadas para serem avaliadas quanto à resistência ao meropenem. Dentre elas, 52,4% (33/63) foram sensíveis a esse carbapenêmico na ausência de zinco e permaneceram sensíveis na presença do metal, com destaque para *Escherichia coli* (88%, 28/32). Em 25,4% (16/63) dos isolados, observou-se sensibilidade ao meropenem na ausência de zinco e resistência na presença do metal. Esses isolados pertencem às espécies *Citrobacter freundii* (100%, 1/1), *Enterobacter asburiae* (67%, 2/3), *Enterobacter cloacae* (45%, 4/9), *Enterobacter kobei* (100%, 1/1), *Klebsiella pneumoniae* (67%, 2/3), *Proteus mirabilis* (56%, 5/9) e *Pseudomonas aeruginosa* (33%, 1/3). Além disso, 15,9% dos isolados mantiveram-se resistentes ao meropenem independente da presença do metal, enquanto apenas 6,3% (4/63) das cepas, resistentes na ausência do zinco, tornaram-se sensíveis ao meropenem na presença do metal, sendo essas pertencentes às espécies *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Vale ressaltar que, na presença de zinco, os isolados de *Citrobacter freundii* e *Enterobacter kobei* tornaram-se resistentes tanto a imipenem como meropenem.

As 16 cepas bacterianas que se tornaram resistentes ao meropenem na presença de zinco foram selecionadas para serem avaliadas quanto a produção de metalobetalactamases. Dessas, 25% (4/16) apresentaram um aumento de ≥ 3 mm no diâmetro do halo em presença de EDTA

(Tabela 2). Essas cepas compreendem as espécies *Enterobacter cloacae* (50%, 2/4), *Enterobacter kobei* (100%, 1/1) e *Proteus mirabilis* (20%, 1/5).

Tabela 2. Percentagem de bactérias possivelmente produtoras de metalobetactamases

Espécies	Nº	Diâmetro dos halos		≠*	% de bactérias produtoras de MBLs MBL (≥ 3mm)
		MPM	MPM+EDTA		
<i>Citrobacter freundii</i>	1	27	28	1	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	26	29	3	50
<i>Enterobacter cloacae</i>		27	27	0	
<i>Enterobacter cloacae</i>		25	28	3	
<i>Enterobacter cloacae</i>		27	26	-1	
<i>Enterobacter asburiae</i>	2	27	28	1	0
<i>Enterobacter asburiae</i>		26	26	0	0
<i>Enterobacter kobei</i>	1	27	30	3	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	13	13	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		10	10	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	5	26	29	3	20
<i>Proteus mirabilis</i>		25	25	0	
<i>Proteus mirabilis</i>		26	28	2	
<i>Proteus mirabilis</i>		20	20	0	
<i>Proteus mirabilis</i>		27	27	0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	12	12	0	0
Total de isolados (n)	16	-	-	-	4
Total de isolados (%)	100	-	-	-	25

*Diferença entre as medidas dos halos de inibição dos discos de meropenem com e sem a adição de EDTA na presença de zinco. Diferença ≥ 3mm entre os halos, indica bactérias potencialmente produtoras de MBL.

6.6 DISCUSSÃO

O uso indiscriminado de metais pesados, como o zinco, em atividades agropecuárias tem levantado preocupações quanto ao seu impacto na seleção de bactérias resistentes a antimicrobianos. Os carbapenêmicos, uma classe de antibióticos amplamente utilizados no tratamento de infecções graves, podem ter sua eficácia comprometida em ambientes com altos níveis de zinco. Isso ocorre porque as metalobetalactamases, enzimas responsáveis pela inativação de antimicrobianos betalactâmicos, como carbapenêmicos, cefalosporinas e penicilinas, necessitam de íons de zinco para sua atividade. Assim, nesse estudo, destaca-se o papel do zinco na modulação de mecanismos de resistência.

Dos 102 isolados bacterianos, 63 tornaram-se resistentes ao carbapênemico imipenem na presença de zinco, e esses foram selecionados para avaliação quanto à resistência ao meropenem. O imipenem, meropenem e ertapenem, pertencentes à classe dos carbapenêmicos, são antimicrobianos que penetram na célula bacteriana por meio de proteínas transmembranas chamadas porinas. Sua ação bactericida ocorre pela inibição da síntese da parede celular, devido a associação com proteínas ligantes de penicilinas (PBPs) (BASSETTI et al., 2009). Em comparação ao imipenem, o meropenem é mais eficiente contra bactérias Gram-negativas, devido à presença de um anel de pirrolidina no carbono 2 (DARVILLE, 1999; BRACHER, 2019). Além disso, o meropenem é considerado o antimicrobiano com a melhor combinação entre sensibilidade e especificidade para testes de detecção de carbapenemases (BRCAST, 2018).

Das 63 cepas bacterianas testadas quanto à resistência ao meropenem, 52,4% (33/63) foram sensíveis a esse carbapênemico na ausência ou presença de zinco. O meropenem apresenta um amplo espectro de ação contra bactérias e, em muitos casos, maior potencial antimicrobiano em comparação a outros carbapenêmicos, como o imipenem. Estudos realizados por Pitkin; Sheikh e Nadler (1997), Nix et al. (2004) e Bassetti et al. (2009), destacaram que o meropenem possui atividade *in vitro* superior ao imipenem contra bactérias Gram-negativas. Esse perfil é consistente com os resultados do presente estudo, no qual todas as bactérias avaliadas são Gram negativas.

Apenas 6,3% (4/63) dos isolados se tornaram sensíveis ao meropenem na presença de zinco, pertencendo às espécies *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. El-Telbany et al. (2022) demonstraram que a combinação de meropenem com nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) resultou em concentrações inibitórias mínimas reduzidas *in vitro* em isolados de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenêmicos. Além disso, nesse mesmo estudo, a aplicação *in vivo* da combinação meropenem-ZnO eliminou infecções causadas por *P. aeruginosa* em ratos, evidenciando que o zinco pode desempenhar um papel complementar com atividade antimicrobiana.

Em 25,4% (16/63) dos isolados, observou-se sensibilidade ao meropenem na ausência de zinco e resistência na presença do metal. Esses isolados pertencem às espécies *Citrobacter freundii* (100%, 1/1), *Enterobacter asburiae* (67%, 2/3), *Enterobacter cloacae* (45%, 4/9), *Enterobacter kobei* (100%, 1/1), *Klebsiella pneumoniae* (67%, 2/3), *Proteus mirabilis* (56%, 5/9) e *Pseudomonas aeruginosa* (33%, 1/3). Na presença de zinco, os isolados de *Citrobacter freundii* e *Enterobacter kobei* tornaram-se resistentes tanto a imipenem como meropenem. Cooper et al. (1993) demonstraram fenotipicamente que a adição de zinco ao ágar Müller-Hinton aumentou a CIM de imipenem para *Pseudomonas aeruginosa*.

O zinco desempenha um papel essencial em diversos processos metabólicos das bactérias, como replicação e transcrição do DNA e divisão celular, além de ser componente e cofator de diversas enzimas (CHOUDHURY; SRIVASTAVA, 2001). Entretanto, concentrações elevadas desse metal podem ser tóxicas para as células bacterianas, pois o zinco

compete com outros metais essenciais pelos sítios de ligação em proteínas e enzimas, comprometendo funções vitais (CHEN et al., 2023). Além disso, o excesso de zinco também é conhecido por inibir a cadeia de transporte de elétrons em bactérias aeróbicas, prejudicando a produção de energia (CHOUDHURY; SRIVASTAVA, 2001). Assim, esse metal pode ser um limitante para alguns microrganismos, o que favorece a seleção de bactérias com mecanismos de regulação homeostática eficientes. Em bactérias Gram-negativas, uma das principais estratégias para eliminar o excesso de zinco do interior celular é o uso de bombas de efluxo, que mantêm o equilíbrio intracelular desse íon (NIES, 1999).

As bombas de efluxo multidrogas utilizam a força motriz de prótons para transportar diversos compostos para fora da célula (NISHINO; NIKAIDA; YAMAGUCHI, 2007). Dentre as bombas de efluxo, destacam-se as responsáveis pela regulação da concentração intracelular de metais, como as ATPases do tipo P e as proteínas do tipo RND (*Resistance-Nodulation-Division*) (NIES, 1999; SILVER; PHUNG, 2005). A ATPase do tipo P, conhecida como ZntA, foi identificada em bactérias Gram-negativas, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas putida*, sendo responsável pelo efluxo de zinco (ADEKANMBI et al., 2020). Já as proteínas do tipo RND, consideradas de grande importância clínica em bactérias Gram-negativas, desempenham papel crucial na resistência a metais, como o sistema CzcCBA. Esse sistema é composto pelas proteínas CzcA, CzcB e CzcC, que regula a homeostase de metais como cádmio, zinco e cobalto (NIES, 1995), é regulado pelo gene *czcRS*, e já foi encontrado em *P. aeruginosa* e *A. baumannii* (PERRON et al., 2004; ALQUETHAMY et al., 2019). Além de sua função na resistência a metais, as bombas RND, como AcrB em *E. coli* e MexB em *P. aeruginosa*, também desempenham um papel importante na homeostase de antimicrobianos (NIES, 1995; NIKAIDO, 1996; NIES, 2003; AURILIO et al., 2022).

A presença de zinco pode influenciar na co-seleção da resistência a carbapenêmicos em bactérias Gram-negativas. Um dos mecanismos genéticos responsáveis pela co-seleção, que resulta em resistência ao zinco e aos carbapenêmicos, é a coregulação. Em *Pseudomonas aeruginosa*, a expressão do sistema CzcRS regula positivamente o complexo da bomba de efluxo de zinco CzcCBA e, ao mesmo tempo, regula negativamente a expressão do gene *oprD*, que codifica a porina carbapenêmica OprD. Esse mecanismo contribui para o aumento da resistência ao zinco e aos carbapenêmicos, como o imipenem (PERRON et al., 2004; CAILLE; ROSSIER; PERRON, 2007; MARGUERETTAZ et al., 2014). Conejo et al. (2003) demonstraram que o zinco exerce um efeito negativo sobre a expressão da OprD2 em *P. aeruginosa*, o que aumenta a resistência a carbapenêmicos nessas bactérias. Mutações que alteram a expressão e/ou funcionamento dessas porinas também podem interferir na sensibilidade a carbapenêmicos (PAPP-WALLACE et al., 2011).

Espécies como *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, e *A. baumannii* podem apresentar uma combinação de diferentes mecanismos de resistência a carbapenêmicos, incluindo alterações nas porinas e bombas de efluxo (LIMANSKY; MUSSI; VIALE, 2002; MENA et al., 2006; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ; POIREL; NORDMANN, 2009). Contudo, a estratégia mais comumente observada é a produção de enzimas capazes de hidrolisar os antimicrobianos. Essas enzimas bacterianas, que degradam carbapenêmicos, são chamadas carbapenemases. Dentro das betalactamases, elas dividem-se em dois grupos, sendo eles as serina-betalactamases, como KPC e OXA-48, e as metalobetalactamases (MBLs), como VIM, NDM e IMP. As MBLs dependem de íons de zinco para sua atividade catalítica (MELETIS, 2016).

No meropenem, 15,9% dos isolados resistentes na ausência de zinco, permaneceram resistentes na presença do metal. Entre esses isolados, encontram-se os gêneros *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*. A resistência a carbapenêmicos é uma preocupação crescente, considerando que esses antimicrobianos são utilizados como uma das últimas opções de tratamento contra bactérias resistentes. No Egito, foram encontrados 11 dos 15 isolados de *K. pneumoniae* provenientes de resíduos de frango, resistentes a carbapenêmicos

e portadores dos genes *bla_{KPC}* e *bla_{OXA-48}*, em frangos de corte (HAMZA; DORGHAM; HAMZA, 2016). Genes de resistência a carbapenêmicos, como *bla_{OXA-48}* e *bla_{OXA-181}*, também foram encontrados em *E. coli* isoladas da carne e fezes de frango (ECDC, 2018) e das fezes de porcos (PULSS et al., 2017), respectivamente. A produção das enzimas carbapenemases do tipo serina-betalactamases, juntamente com bombas de efluxo e/ou redução das porinas, pode ser a explicação para a resistência a carbapenêmicos observada nos isolados, mesmo na ausência de zinco. Entretanto, o foco deste estudo foi a identificação fenotípica da produção de MBLs nas bactérias que se tornaram resistentes ao meropenem na presença de zinco (16/63).

Dentre os 16 isolados testados fenotipicamente para produção de MBL, quatro apresentaram um aumento de ≥ 3 mm no diâmetro do halo em presença de EDTA. Essas cepas incluem as espécies *Enterobacter cloacae* (50%, 2/4), *Enterobacter kobei* (100%, 1/1) e *Proteus mirabilis* (20%, 1/5) (Tabela 2). Embora a confirmação genotípica seja necessária, esses resultados indicam que essas cepas bacterianas são possíveis produtoras de betalactamases dependentes de zinco, conhecidas como metalobetalactamases.

As metalobetalactamases, por requererem zinco em seus sítios ativos, podem ser inibidas pelo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), que é um quelante de zinco e de outros metais divalentes (RASMUSSEN; BUSH, 1997; QUEENAN; BUSH, 2007). O aumento no tamanho do halo nos discos de meropenem com a adição de EDTA sugere que a atividade hidrolítica da carbapenemase produzida pela bactéria foi inibida ou reduzida pelo ácido adicionado, indicando a provável produção de metalobetalactamase. A presença de zinco durante o crescimento das bactérias nesse estudo parece ter ativado as MBLs no periplasma da célula bacteriana. Além de reduzir a expressão das porinas responsáveis pelo influxo do antimicrobiano na célula bacteriana, a adição de zinco no meio de cultura possibilita a formação de moléculas ativas de metalobetalactamases, conforme Conejo et al. (2003). A partir disso, especula-se que as cepas que se tornaram resistentes a meropenem na presença de zinco possuam como mecanismo de resistência a produção de MBLs.

A produção de MBLs já foi descrita em enterobactérias e outras espécies Gram-negativas clinicamente importantes. *Enterobacter* spp. produtoras de VIM, NDM e IMP foram encontradas em diversos países, como Austrália, China, Grécia, Itália, entre outros (ESPEDIDO et al., 2005; GALANI et al., 2005; QUEENAN; BUSH, 2007; CAI et al., 2019). A produção dessas enzimas, juntamente com outros mecanismos de resistência, como alterações nas porinas e expressão aumentada de ESBL e/ou AmpC, são responsáveis pelos altos níveis de resistência a carbapenêmicos nessa espécie (WOZNIAK et al., 2012; MAJEWSKI et al., 2016; SORIANO; MENSA, 2022). Outras espécies de bactérias Gram-negativas, como *Pseudomonas* spp. e *K. pneumoniae*, provenientes de resíduos animais, frequentemente são identificadas como produtores de MBLs (HAMZA; DORGHAM; HAMZA, 2016; FALODUN; IKUSIKA, 2019; TAMTA et al., 2020; XIE et al., 2023).

6.7 CONCLUSÃO

Resíduos da produção animal, como a cama de aviário e de cavalo, contêm determinantes de resistência a carbapenêmicos e, a presença do zinco pode influenciar a expressão dessa resistência, seja por meio da co-seleção de mecanismos de resistência, como redução da permeabilidade da membrana e/ou bombas de efluxo, ou pela presença de carbapenemases dependentes de zinco (metalobetalactamases).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo evidencia que sistemas de manejo agrícola e metais pesados desempenham um papel crucial na modulação da resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas, com ênfase nos solos e resíduos de origem animal. Esses ambientes abrigam resíduos de antimicrobianos e metais pesados, além de bactérias resistentes a esses compostos, genes de resistência e elementos genéticos móveis. Como resultado, solos e os resíduos animais se tornam importantes reservatórios e vias de disseminação de resistência a antimicrobianos, representando riscos significativos para o meio ambiente e para a saúde pública.

Nesse contexto, sistemas de manejo que utilizam resíduos animais como fertilizantes alteram os atributos químicos dos solos, influenciando diretamente a composição e diversidade microbiana, bem como a dinâmica dos genes de resistência. A interação entre metais pesados e antimicrobianos é especialmente preocupante, pois a presença desses elementos no solo favorece a seleção de bactérias resistentes e influencia os mecanismos bacterianos de resistência.

Apesar da relevância desse tema e de seus impactos globais, ainda há escassez de estudos sobre a resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas na literatura, o que limita uma compreensão mais aprofundada do problema e a proposição de soluções efetivas. Este cenário destaca, portanto, a necessidade de ampliar as pesquisas sobre resistência a antimicrobianos em ambientes agrícolas no Brasil, dado que ainda existem inúmeras lacunas a serem preenchidas como 1) a identificação e caracterização de determinantes de resistência a antimicrobianos e elementos genéticos móveis presentes naturalmente em diferentes tipos de solos e regiões do Brasil; 2) o estudo detalhado do comportamento e da persistência das diferentes classes de antimicrobianos no ambiente, considerando fatores como degradação, mobilidade e bioacumulação; a análise minuciosa da dinâmica da resistência aos antimicrobianos utilizando técnicas fenotípicas e moleculares de forma integrada, a fim de compreender os mecanismos e as interações subjacentes; 3) a avaliação do impacto de atividades antropogênicas, como sistemas de manejo agrícola, uso de diferentes fontes de fertilizantes, irrigação com águas residuais e descarte inadequado de medicamentos, na disseminação da resistência nos solos; 4) o entendimento das vias e mecanismos de transmissão de determinantes de resistência de microrganismos do solo para patógenos que afetam humanos e animais, incluindo fatores que influenciam a transferência horizontal de genes; 5) o desenvolvimento e a validação de práticas, técnicas e processos agrícolas sustentáveis que possam reduzir efetivamente a pressão seletiva e a disseminação da resistência a antimicrobianos; 6) a proposição e avaliação de intervenções integradas, considerando aspectos ambientais, sociais e econômicos, que visem mitigar a persistência e disseminação da resistência a antimicrobianos a partir de ambientes agrícolas; 7) a influência de diferentes metais pesados e outros contaminantes emergentes no processo de co-seleção de bactérias resistentes, especialmente em solos agrícolas; 8) o impacto das mudanças climáticas sobre os padrões de resistência em ambientes agrícolas, como alterações na dinâmica microbiana e na persistência de antimicrobianos no solo; 9) a criação de sistemas de vigilância ambiental específicos para monitorar *hotspots* de resistência, com foco em regiões de maior vulnerabilidade no Brasil.

O conhecimento gerado será essencial para a elaboração de propostas de vigilância ambiental que contribuam para reduzir a disseminação da resistência a antimicrobianos. A resistência a antimicrobianos, classificada como uma enfermidade emergente, é considerada uma das três maiores ameaças à saúde pública no século XXI, devido ao seu impacto crescente na eficácia dos tratamentos médicos, na segurança alimentar e na sustentabilidade ambiental. A

integração de abordagens multidisciplinares será crucial para identificar pontos críticos, implementar estratégias eficazes e fortalecer políticas de saúde voltadas à mitigação desse problema global.

Vale ressaltar ainda que a resistência a antimicrobianos está profundamente conectada aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) das Nações Unidas, representando um desafio transversal que impacta diretamente diversas metas globais. Esta problemática ameaça a saúde pública (ODS 3: Saúde e Bem-Estar), ao reduzir a eficácia de tratamentos contra infecções e, consequentemente, aumentar a mortalidade por doenças infecciosas. Além disso, está ligada a sistemas de produção agrícola e pecuária sustentáveis (ODS 2: Fome Zero e Agricultura Sustentável), considerando o uso de antimicrobianos em animais e seus resíduos na agricultura como fertilizantes orgânicos. A gestão e o descarte inadequado de resíduos antimicrobianos pode comprometer a qualidade dos corpos hídricos (ODS 6: Água Potável e Saneamento) e o equilíbrio dos ecossistemas aquáticos (ODS 14: Vida na Água) e terrestres (ODS 15: Vida Terrestre), em função do impacto sobre a biodiversidade e os solos. Essa realidade reforça a necessidade do uso sustentável de antimicrobianos e da gestão adequada de resíduos (ODS 12: Consumo e Produção Responsáveis), e destaca a importância da cooperação internacional para combater a resistência antimicrobiana em escala global (ODS 17: Parcerias para a Implementação dos Objetivos), promovendo políticas integradas e investimentos em pesquisa para mitigar os impactos sociais, econômicos e ambientais dessa crise emergente.

Portanto, compreender e mitigar a resistência a antimicrobianos é essencial não apenas para a saúde global, mas também para promover práticas alinhadas aos ODS, garantindo um futuro mais sustentável e resiliente para todos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 13.969 de 30 de outubro de 1997**. Unidades de tratamento complementar e disposição final dos efluentes líquidos (1997). Disponível em: <https://www.ipaam.am.gov.br/wp-content/uploads/2021/01/NBR-13969-97-TS-Unid-trat-complem-e-disposi%C3%A7%C3%A3o-final.pdf>. Acesso em: 18 out. 2023.
- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Mercado mundial** (2022). Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/mercado-mundial>. Acesso em: 3 dez. 2023.
- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2023** (2023). Disponível em: <https://abpa-br.org/>. Acesso em: 15 dez. 2023.
- ACIOLY, L. M. L. ***Pantoea* isolada de efluente industrial**: identificação, caracterização, susceptibilidade e aplicação na remoção de metais pesados. 2014. 157 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.
- ADEKANMBI, A. O.; ADELEKE, O. J.; AREMU, O. O.; OLAPOSI, A. V. Molecular characterization, antibiogram and distribution of *zntA* gene in zinc-resistant *Escherichia coli* population recovered from anthropogenically-influenced surface water sources in Nigeria. **Meta Gene**, v. 26, p. 100789, 2020.
- AGUIAR, L. M.; SOUZA, M. F.; LAIA, M. L.; MELO, J. O.; COSTA, M. R.; GONÇALVES, J. F.; SANTOS, J. B. Metagenomic analysis reveals mechanisms of atrazine biodegradation promoted by tree species. **Environmental Pollution**, v. 267, p. 115636, 2020.
- AKINDUTI, P. A.; MOTAYO, B.; IDOWU, O. M.; ISIBOR, P. O.; OLASEHINDE, G. L.; OBAFEMI, Y. D.; UGBOKO, H. U.; OYEWALE, J. O.; OLUWADUN, A.; ADEYEMI, G. A. Adequação do ensaio espectrofotométrico para determinação da inibição microbiana do mel. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1299, n. 1, p. 012131, 2019.
- ALENGEBAWY, A.; ABDELKHALEK, S. T.; QURESHI, S. R.; WANG, M. Q. Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: ecological risks and human health implications. **Toxics**, v. 9, n. 3, p. 42, 2021.
- ALQUETHAMY, S. F.; ADAMS, F. G.; NAIDU, V.; KHORVASH, M.; PEDERICK, V. G.; ZANG, M.; PATON, J. C.; PAULSEN, I. T.; HASSAN, K. A.; CAIN, A. K.; MCDEVITT, C. A.; EIJKELKAMP, B. A. The role of zinc efflux during *Acinetobacter baumannii* infection. **ACS Infectious Diseases**, v. 6, n. 1, p. 150–158, 2019.
- ALONSO, A.; SANCHEZ, P.; MARTINEZ, J. L. Environmental selection of antibiotic resistance genes. **Environmental Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2001.
- AMBLER, R. P. The structure of beta-lactamases. *Philosophical transactions of the Royal Society of London*. **Biological sciences**, v. 289, n. 1036, p. 321-331, 1980.
- AMINOV, R. I.; GARRIGUES-JEANJEAN, N.; MACKIE, R. I. Molecular ecology of tetracycline resistance: Development and validation of primers for detection of tetracycline

resistance genes encoding ribosomal protection proteins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 22-32, 2001.

ANA. Agência Nacional de Águas. **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil 2019: informe anual** (2019). Disponível em: https://www.snirh.gov.br/portal/centrais-de-conteudos/conjuntura-dos-recursos-hidricos/conjuntura_informe_anual_2019-versao_web-0212-1.pdf. Acesso em: 1 fev. 2024.

ANDERSEN, K. S.; KIRKEGAARD, R. H.; KARST, S. M.; ALBERTSEN, M. Ampvis2: an R package to analyse and visualise 16S rRNA amplicon data. **BioRxiv**, p. 299537, 2018.

ANGELAKIS, A. N.; ASANO, T.; BAHRI, A.; JIMENEZ, B. E.; TCHOBANOGLIOUS, G. Water reuse: from ancient to modern times and the future. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, p. 26, 2018.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Nota Técnica nº 1/2013**. Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes (2013). Disponível em: <https://antigo.anvisa.gov.br/documents/33852/271858/Nota+t%C3%A9cnica+n%C2%BA+01+de+2013/5be89853-7eca-4b4b-98e4-5096b9f5a2ec?version=1.1>. Acesso em: 16 out. 2024.

ARMALYTĖ, J.; SKERNIŠKYTĖ, J.; BAKIENĖ, E.; KRASAUSKAS, R.; ŠIUGŽDINIENĖ, R.; KAREIVIENĖ, V.; KERZIENĖ, S.; KLIMIENE, I.; SUZIEDELIENE, E.; RUŽAUSKAS, M. Microbial diversity and antimicrobial resistance profile in microbiota from soils of conventional and organic farming systems. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 892, 2019.

ASLAN, A.; COLE, Z.; BHATTACHARYA, A.; OYIBO, O. Presence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in wastewater treatment plant effluents utilized as water reuse for irrigation. **Water**, v. 10, n. 6, p. 805, 2018.

ASSEF, A. P. D. C.; NETO, O. C. C. Bases moleculares da resistência bacteriana. In: TORRES, A. B. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos. Brasília: Anvisa, 2020.

ATUCHIN, V. V.; ASYAKINA, L. K.; SERAZETDINOVA, Y. R.; FROLOVA, A. S.; VELICHKOVICH, N. S.; PROSEKOV, A. Y. Microorganisms for bioremediation of soils contaminated with heavy metals. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 864, 2023.

AURILIO, C.; SANSONE, P.; BARBARISI, M.; POTA, V.; GIACCARI, L. G.; COPPOLINO, F.; BARBARISI, A.; PASSAVANTI, M. B.; PACE, M. C. Mechanisms of Action of Carbapenem Resistance. **Antibiotics**, v. 11, n. 3, p. 421, 2022.

BAKER-AUSTIN, C.; WRIGHT, M. S.; STEPANAUSKAS, R.; MCARTHUR, J. V. Co-selection of antibiotic and metal resistance. **Trends in microbiology**, v. 14, n. 4, p. 176-182, 2006.

BARBOSA, D. R.; GARCÍA, A. C.; SOUZA, C. D. C. B.; SOBRINHO, N. M. B. A. Influence of humic acid structure on the accumulation of oxyfluorfen in tropical soils of mountain agroecosystems. **Environmental Pollution**, v. 284, p. 117380, 2021.

BARON, S. **Medical microbiology - 4th edition**. University of Texas Medical Branch, Galveston, 1996.

BARZA, M. Potential mechanisms of increased disease in humans from antimicrobial resistance in food animals. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, p. 123-125, 2002.

BASSETTI, M.; NICOLINI, L.; ESPOSITO, S.; RIGHI, E.; VISCOLI, C. Current Status of Newer Carbapenems. **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 5, p. 564–575, 2009.

BASTOS, M. C.; SANTOS, D. R.; AUBERTHEAU, É.; LIMA, J. A. M. C.; LE GUET, T.; CANER, L.; MONDAMERT, L.; LABANOWSKI, J. Antibiotics and microbial resistance in Brazilian soil under manure application. **Land Degradation & Development**, v. 29, n. 8, p. 2472-2484, 2018.

BATISTA, P. H. M.; PITANGA, I. A.; NETO, J. C. R.; PINTO, L. M. A.; ARAUJO, F. R. Implicações da resistência antimicrobiana na prática clínica. **International Journal of Health Management Review**, v. 10, n. 1, p. e356-e356, 2024.

BAYERLE, D. F.; NUNES, R. V.; JUNIOR, A. C. G.; WACHHOLZ, L.; SCHERER, C.; DA SILVA, I. M.; OLIVEIRA-BRUXEL, T. M.; VARGAS JUNIOR, J. G. Mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) na alimentação de pintos de corte utilizando tanino como sequestrante de metais tóxicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 2, p. 843-854, 2017.

BEN, Y.; FU, C.; HU, M.; LIU, L.; WONG, M. H.; ZHENG, C. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. **Environmental research**, v. 169, p. 483-493, 2019.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)**, v. 57, n. 1, p. 289-300, 1995.

BERTHOLOTO, D. M. **Efeito da compostagem na comunidade bacteriana de cama de aviário proveniente de sistema de produção orgânico e convencional: uma abordagem em Saúde Única**. 2022. 105 f.. Tese (Doutorado em Ciências, Tecnologia e Inovação em Agropecuária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2022.

BERTOL, I.; COGO, N. P.; SCHICK, J.; GUDAGNIN, J. C.; AMARAL, A. J. Aspectos financeiros relacionados às perdas de nutrientes por erosão hídrica em diferentes sistemas de manejo do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 133-142, 2007.

BHERING, A. S.; CARMO, M. G. F.; MATOS, T. S.; LIMA, E. S. A.; SOBRINHO, N. M. B. A. Soil factors related to the severity of Clubroot in Rio de Janeiro, Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 8, p. 1345-1353, 2017.

BIZUTI, D. T.; ROBIN, A.; SOARES, T. M.; MORENO, V. S.; ALMEIDA, D. R.; ANDREOTE, F. D.; CASAGRANDE, J. C.; HERRMANN, L.; MELIS, J. V.; PERIM, J. E. L.; MEDEIROS, S. D. S.; SORRINI, T. B.; BRANCALION, P. H. Multifunctional soil recovery during the restoration of Brazil's Atlantic Forest after bauxite mining. **Journal of Applied Ecology**, v. 59, n. 9, p. 2262-2273, 2022.

BLAAK, H.; VAN HOEK, A. H.; HAMIDJAJA, R. A.; VAN DER PLAATS, R. Q. J.; KERKHOF-DE HEER, L.; HUSMAN, A. M. R.; SCHETS, F. M. Distribution, Numbers, and Diversity of ESBL-Producing *E. coli* in the Poultry Farm Environment. **PloS one**, v. 10, n. 8, p. e0135402, 2015.

BLAIR, J. M. A.; WEBBER, M. A.; BAYLAY, A. J.; OGBOLU, D. O.; PIDDOCK, L. J. V.; Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nat Rev Microbiol**, v. 1, n. 13, p. 42–51, 2015.

BLAIR, J. M. A.; RICHMOND, G. E.; PIDDOCK, L. J. V. Multidrug efflux pumps in Gram-negative bacteria and their role in antibiotic resistance. **Future microbiology**, v. 9, n. 10, p. 1165-1177, 2014.

BLAIS, J. F.; DJEDIDI, Z.; CHEIKH, R. B.; TYAGI, R. D. E.; MERCIER, G. Metals precipitation from effluents. **Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management**, v. 12, n. 3, p. 135-149, 2008.

BOKMA-BAKKER, M. H.; BONDT, N.; NEIJENHUIS, F.; MEVIUS, D. J.; RUITER, S. J. M. **Antibiotic Use in Brazilian Broiler and Pig Production: An Indication and Forecast of Trends** (2014). Disponível em: <https://edepot.wur.nl/297414>. Acesso em: 14 dez. 2023.

BRACHER, F. With a Little Help from Good Friends–Boosters for the Prevention of Undesired Enzymatic Degradation of Anti-infective Drugs. **Journal of Infectiology and Epidemiology**, v. 2, n. 4, 2019.

BRANDJES, P. J.; WIT, J.; MEER, H. G. **Livestock and the environment: finding a balance**. Wageningen: IAC, 1996.

BRASIL. **Lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012**. Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa (2012). Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2012/lei/l12651.htm. Acesso em: 02 jun. 2022.

BRCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **Orientações do EUCAST para a detecção de mecanismos de resistência e resistências específicas de importância clínica e/ou epidemiológica** (2018). Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/07/Orientacoes-do-EUCAST-para-a-deteccao-de-mecanismos-de-resistencia-e-resistencias-especificas-de-importancia-clinica-e-ou-epidemiologica.pdf>. Acesso em: 16 out. 2024.

BRCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos: Método de Disco-Difusão** (2023). Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Metodo-de-Disco-Difusao-BrCAST-15-ago-2023-1.pdf>. Acesso em: 16 out. 2024.

BURKI, T. K. Tackling antimicrobial resistance in food-producing animals. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 6, n. 2, p. 93-94, 2018.

BUSH, K. Metallo- β -Lactamases: A Class Apart. **Clinical Infectious Diseases**, v. 27, n. s1, p. S48–S53, 1998.

CABRAL, L.; GIOVANELLA, P.; GIANELLO, C.; BENTO, F. M.; ANDREAZZA, R.; CAMARGO, F. A. O. Isolation and characterization of bacteria from mercury contaminated sites in Rio Grande do Sul, Brazil, and assessment of methylmercury removal capability of a *Pseudomonas putida* V1 strain. **Biodegradation**, v. 24, p. 319-331, 2013.

CAI, Y.; CHEN, C.; ZHAO, M.; YU, X.; LAN, K.; LIAO, K.; GUO, P.; ZHANG, W.; MA, X.; HE, Y.; ZENG, J.; CHEN, L.; JIA, W.; TANG, Y. W.; HUANG, B. High Prevalence of Metallo- β -Lactamase-Producing *Enterobacter cloacae* From Three Tertiary Hospitals in China. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019.

CAILLE, O.; ROSSIER, C.; PERRON, K. A Copper-Activated Two-Component System Interacts with Zinc and Imipenem Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 189, n. 13, p. 4561–4568, 2007.

CALDEIRA, L. G. M. **Pesquisa de resíduos de antimicrobianos em ovos e validação de método multirresíduos qualitativo e confirmatório por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial**. 2012. 138 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2012.

CALEGARI, A.; MONDARDO, A.; BULISANI, E. A.; WILDNER, L. P.; COSTA, M. B. B.; ALCÂNTARA, P. B.; MIYASAKA, S.; AMADO, T. J. C. **Adubação verde no sul do Brasil**. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993.

CARVALHO, T. S.; JESUS, E. D. C.; BARLOW, J.; GARDNER, T. A.; SOARES, I. C.; TIEDJE, J. M.; MOREIRA, F. M. D. S. Land use intensification in the humid tropics increased both alpha and beta diversity of soil bacteria. **Ecology**, v. 97, n. 10, p. 2760-2771, 2016.

CERQUEIRA, A. E. S.; SILVA, T. H.; NUNES, A. C. S.; NUNES, D. D.; LOBATO, L. C.; VELOSO, T. G. R.; PAULA, S. O.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, C. C. Amazon basin pasture soils reveal susceptibility to phytopathogens and lower fungal community dissimilarity than forest. **Applied Soil Ecology**, v. 131, p. 1-11, 2018.

CERQUEIRA, F.; MATAMOROS, V.; BAYONA, J. M.; BERENDONK, T. U.; ELSINGA, G.; HORNSTRA, L. M.; PIÑA, B. Antibiotic resistance gene distribution in agricultural fields and crops. A soil-to-food analysis. **Environmental research**, v. 177, p. 108608, 2019.

CHAPMAN, J. S. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 51, n. 4, p. 271-276, 2003.

CHATTOPADHYAY, M. K. Use of antibiotics as feed additives: a burning question. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 334, 2014.

CHEDIACK, S. E.; BAQUEIRO, M. F. Extração e conservação do palmito. In: GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I. G. **Mata Atlântica: Biodiversidade, ameaças e perspectivas**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2005.

CHEN, J.; CALDERONE, L. A.; PAN, L.; QUIST, T.; PANDELIA, M. E. The Fe and Zn cofactor dilemma. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics**, v. 1871, n. 5, p. 140931–140931, 2023.

CHIESA, L.; NOBILE, M.; ARIOLI, F.; BRITTI, D.; TRUTIC, N.; PAVLOVIC, R.; PANSERI, S. Determination of veterinary antibiotics in bovine urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 185, p. 7-15, 2015.

CHONG, J.; LIU, P.; ZHOU, G.; XIA, J. Using MicrobiomeAnalyst for comprehensive statistical, functional, and meta-analysis of microbiome data. **Nature protocols**, v. 15, n. 3, p. 799-821, 2020.

CHOPRA, I.; ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 65, p. 232-260, 2001.

CHOUDHURY, R.; SRIVASTAVA, S. Zinc resistance mechanisms in bacteria. **Current Science**, v. 81, n. 7, p. 768-775, 2001.

CLEARY, D. W.; BISHOP, A. H.; ZHANG, L.; TOPP, E.; WELLINGTON, E. M.; GAZE, W. H. Long-term antibiotic exposure in soil is associated with changes in microbial community structure and prevalence of class 1 integrons. **FEMS microbiology ecology**, v. 92, n. 10, p. fiv159, 2016.

COEMA. Conselho Estadual do Meio Ambiente. **Resolução Estadual nº 2 de 02 de fevereiro de 2017**. Dispõe sobre padrões e condições para lançamento de efluentes líquidos gerados por fontes poluidoras (2017). Disponível em: <https://www.semace.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/46/2019/09/COEMA-02-2017.pdf>. Acesso em: 2 fev. 2024.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357 de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento (2005). Disponível em: https://www1.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfda_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf. Acesso em: 20 mai. 2024.

CONEJO, M. C.; GARCÍA, I.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; PICABEA, L.; PASCUAL, A. Zinc eluted from siliconized latex urinary catheters decreases OprD expression, causing carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 7, p. 2313-2315, 2003.

CONERH. Conselho Estadual de Recursos Hídricos. **Resolução Estadual nº 75 de 29 de julho de 2010**. Estabelece modalidades, diretrizes e critérios gerais para prática de reúso direto não potável de água (2010). Disponível em: <http://www.seia.ba.gov.br/legislacao-ambiental/resolucoes/resolu-o-conerh-n-75#:~:text=Resolu%C3%A7%C3%A3o%20CONERH%20N%C2%BA.-,75,modalidade%20agr%C3%ADcola%20e%20Fou%20florestal>. Acesso em: 20 jan. 2024.

COOPER, G. L.; LOUIE, A. R. N. O. L. D.; BALTCH, A. L.; CHU, R. C.; SMITH, R. P.; RITZ, W. J.; MICHELSEN, P. Influence of zinc on *Pseudomonas aeruginosa* susceptibilities to imipenem. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 9, p. 2366-2370, 1993.

CORRÊA, J. C.; BENITES, V. M.; REBELLATTO, A. O uso dos resíduos animais como fertilizantes. In: II Simpósio Internacional sobre gerenciamento de resíduos agropecuários e

agroindustriais, 2011, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Embrapa Suínos e Aves, 2011. p. 91-94.

CUI, B.; LIANG, S. Monitoring opportunistic pathogens in domestic wastewater from a pilot-scale anaerobic biofilm reactor to reuse in agricultural irrigation. **Water**, v. 11, n. 6, p. 1283, 2019.

D'COSTA, V. M.; KING, C. E.; KALAN, L.; MORAR, M.; SUNG, W. W. L.; SCHWARZ, C.; FROESE, D.; ZAZULA, G.; CALMELS, F.; DEBRUYNE, R.; GOLDING, G. B.; POINAR, H. N.; WRIGHT, G. D. Antibiotic resistance is ancient. **Nature**, v. 477, n. 7365, p. 457-461, 2011.

DALLANORA, F.; DALLANORA, L. M. F.; DALLANORA, A. F.; BOHNEBERGER, G.; AGOSTINI, F. M. D.; CARVALHO, D.; REMOR, A. P. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente em isolados de efluente hospitalar e doméstico na rede coletora pública. **Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde**, v. 1, n. 1, p. 46-55, 2023.

DANTAS, M. E.; SHINZATO, E.; MEDINA, A. I. D. M.; SILVA, C. R. D.; PIMENTEL, J.; LUMBRERAS, J. F.; CALDERANO, S. B.; FILHO, A. D. C. **Diagnóstico Geoambiental do Estado do Rio De Janeiro** (2015). Disponível em: http://www.cprm.gov.br/publique/media/artigo_geoambiental RJ.pdf. Acesso em: 04 jul. 2018.

DARVILLE, T. Imipenem and meropenem. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 38-44, 1999.

DAVIES, J.; DAVIES, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 74, n. 3, p. 417-433, 2010.

DEFALCO, T. **Caracterização de bactérias resistentes a metais pesados e o potencial para biorremediação**. 2022. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2022.

DEGGERONI, A. F.; LUTINSKI, J. A.; BUSATO, M. A. Vigilância ambiental em saúde: Uma década de experiência no atendimento de agravos à saúde em Chapecó-SS. **Temas em Saúde**, v. 22, n.1, p. 197-221, 2022.

DELANGIZ, N.; VARJOVI, M. B.; LAJAYER, B. A.; GHORBANPOUR, M. Beneficial microorganisms in the remediation of heavy metals. **Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture**, p. 417-423, 2020.

DELGADO-BAQUERIZO, M.; HU, H. W.; MAESTRE, F. T.; GUERRA, C. A.; EISENHAUER, N.; ELDRIDGE, D. J.; ZHU, Y. G.; CHEN, Q. L.; TRIVEDI, P.; DU, S.; MAKHALANYANE, T. P.; VERMA, J. P.; GOZALO, B.; OCHOA, V.; ASENSIO, S.; WANG, L.; ZAADY, E.; ILLÁN, J. G.; SIEBE, C.; GREBENC, T.; ZHOU, X.; LIU, Y. R.; BAMIGBOYE, A. R.; BLANCO-PASTOR, J. L.; HE, J. Z. The global distribution and environmental drivers of the soil antibiotic resistome. **Microbiome**, v. 10, n. 1, p. 219, 2022.

DODDS, D. R. Antibiotic resistance: A current epilogue. **Biochemical pharmacology**, v. 134, p. 139-146, 2017.

DONAGEMA, G. K.; CAMPOS, D. B.; CALDERANO, S. B.; TEIXEIRA, W. G.; VIANA, J. M. **Manual de métodos de análise de solo**. Embrapa Solos-Documentos, 2011.

DUPONT, C. L.; GRASS, G.; RENSING, C. Copper toxicity and the origin of bacterial resistance-new insights and applications. **Metallomics**, v. 3, n. 11, p. 1109-1118, 2011.

EC. European Commission. **Regulamento da Comissão 2021/1760**. Regulamento Delegado da Comissão que complementa o Regulamento 2019/6 do Parlamento Europeu e do Conselho, estabelecendo os critérios para a designação de agentes antimicrobianos a reservar para o tratamento de certas infeções em seres humanos (2021). Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX:32021R1760>. Acesso em: 21 ago. 2023.

EC. European Commission. **Regulamento de Execução 2022/1255 da Comissão**. Regulamento de 19 de julho de 2022 que designa antimicrobianos ou grupos de antimicrobianos reservados para o tratamento de certas infeções em seres humanos, em conformidade com o Regulamento 2019/6 do Parlamento Europeu e do Conselho (2022). Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1255>. Acesso em: 21 ago. 2023.

EC. European Commission. **Regulamento do Conselho nº 1831/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho**. Regulamento de 22 de setembro de 2003 relativo a aditivos para utilização na alimentação animal (2003). Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32003R1831>. Acesso em: 21 ago. 2023.

EC. European Commission. **Regulamento do Conselho nº 2821/98**. Regulamento de 17 de Dezembro de 1998, que altera, no que respeita à retirada da autorização de determinados antibióticos, a Directiva 70/524/EEC relativa aos aditivos nos alimentos para animais (1998). Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A31998R2821>. Acesso em: 21 ago. 2023.

ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. **Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2017** (2018). Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AMR-surveillance-EARS-Net-2017-updated-dec-18.pdf>. Acesso em: 16 out. 2024.

EL-TELBANY, M.; MOHAMED, A. A.; YAHYA, G.; ABDELGHAFAR, A.; ABDELHALIM, M. S.; SABER, S.; ALFALEH, M. A.; MOHAMED, A. H.; ABDELRAHMAN, F.; ALI, G. H.; ABDEL-HALEEM, M. Combination of Meropenem and Zinc Oxide Nanoparticles; Antimicrobial Synergism, Exaggerated Antibiofilm Activity, and Efficient Therapeutic Strategy against Bacterial Keratitis. **Antibiotics**, v. 11, n. 10, p. 1374, 2022.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Visão e tendências sobre intensificação e sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola** (2024). Disponível em: <https://www.embrapa.br/visao/intensificacao-e-sustentabilidade-dos-sistemas-de-producao-agricolas>. Acesso em: 12 jan. 2025.

ESPEDIDO, B.; IREDELL, J.; THOMAS, L.; ZELYNSKI, A. Wide Dissemination of a Carbapenemase Plasmid among Gram-Negative Bacteria: Implications of the Variable Phenotype. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 9, p. 4918–4919, 2005.

FALODUN, O. I.; IKUSIKA, E. O. Extended spectrum and metallo-beta-lactamase *Pseudomonas* species from poultry and piggery waste. **MicroMedicine**, v. 7, n. 2, p. 37–45, 2019.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Water for Sustainable Food and Agriculture**: A report was produced for the G20 Presidency of Germany. Roma: Food & Agriculture Org, 2017.

FAORO, H.; ALVES, A. C.; SOUZA, E. M.; RIGO, L. U.; CRUZ, L. M.; AL-JANABI, S. M.; MONTEIRO, R. A.; BAURA, V. A.; PEDROSA, F. O. Influence of soil characteristics on the diversity of bacteria in the Southern Brazilian Atlantic Forest. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 14, p. 4744-4749, 2010.

FARIAS, B. O. D.; BIANCO, K.; NASCIMENTO, A. P. A.; BRITO, A. S. G.; MOREIRA, T. C.; CLEMENTINO, M. M. Genomic analysis of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* harboring vanA gene from Wastewater Treatment plants. **Microbial Drug Resistance**, v. 28, n. 4, p. 444-452, 2022.

FDA. Food and Drug Administration. **Fact Sheet: Veterinary Feed Directive Final Rule and Next Steps** (2017). Disponível em: <https://www.fda.gov/animalveterinary/developmentapprovalprocess/ucm449019.htm>. Acesso em: 18 jan. 2024.

FERREIRA, P. F. A.; ROCHA, F. I.; HOWE, A.; BARBOSA, D. R.; JESUS, E. D. C.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. D.; COELHO, I. D. S. Chemical attributes, bacterial community, and antibiotic resistance genes are affected by intensive use of soil in agroecosystems of the Atlantic Forest, Southeastern Brazil. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 46, n. 4, p. 123, 2024.

FERREIRA, P. F. A.; XAVIER, J. F.; BERTHOLOTO, D. M.; MELO, D. A. D.; CORREIA, T. R.; COELHO, S. D. M. D. O.; SOUZA, M. M. S. D.; LEAL, M. A. D. A.; ARAÚJO, E. D. S.; COELHO, I. D. S. Effect of composting on the microbiological and parasitic load in animal production wastes in Brazil. **International journal of recycling organic waste in agriculture**, v. 10, n. 3, p. 265-273, 2021.

FERREIRA, P. F. A.; XAVIER, J. F.; NUNES, J. F.; FONSECA, I. P.; COELHO, S. M. O.; SOUZA, M. M. S.; COELHO, I. S. Bacteria and antimicrobial resistance profile during the composting process of wastes from animal production. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 1157-1167, 2023.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FUJII, K. Y.; DITTRICH, J. R.; CASTRO, E. A.; SILVEIRA, E. O. Processos de tratamento de resíduos de coqueira e a redução ou eliminação de ovos e larvas infectantes do gênero *Strongylus* spp. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 226-231, 2014.

GALANI, I.; SOULI, M.; CHRYSSOULI, Z.; ORLANDOU, K.; GIAMARELLOU, H. Characterization of a new integron containing blaVIM-1 and aac(6')-IIc in an *Enterobacter*

cloacae clinical isolate from Greece. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 55, n. 5, p. 634–638, 2005.

GARLIPP, F.; HESSEL, E. F.; WEGHE, V. D.; HERMAN, F. A. Characteristics of gas generation (NH₃, CH₄, N₂O, CO₂, H₂O) from horse manure added to different bedding materials used in deep litter bedding systems. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 31, p. 383-395, 2011.

GARRITY, G. M.; BELL, J. A.; LIBURUN, T. G. Taxonomic outline of prokaryotes. In: BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T.; GARRITY, G. M. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. New York: Springer, 2004. p. 1-399.

GILLER, K. E.; WITTER, E.; MCGRATH, S. P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. **Soil biology and biochemistry**, v. 30, n. 10-11, p. 1389-1414, 1998.

GÓMEZ, E. M. P.; DOMÍNGUEZ, R. E.; LÓPEZ, D. A.; TÉLLEZ, J. F.; MARINO, M. D.; ALMADA, N.; GANGE, J. M.; MOYANO, E. L. Chicken litter: A waste or a source of chemicals? Fast pyrolysis and hydrothermal conversion as alternatives in the valorisation of poultry waste. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 169, p. 105796, 2023.

GONÇALVES, R. F. **Desinfecção de águas residuárias**. Rio de Janeiro: ABES/RiMA, 2003.

GONSALVES, A. D. A.; ARAÚJO, C. R. M.; LEITE FILHO, C. A.; MEDEIROS, F. S. D. Contextualizando reações ácido-base de acordo com a teoria protônica de Brønsted-Lowry usando comprimidos de propranolol e nimesulida. **Química Nova**, v. 36, p. 1236-1241, 2013.

GONZÁLEZ, J. M.; MEINI, M. R.; TOMATIS, P. E.; MARTÍN, F. J. M.; CRICCO, J. A.; VILA, A. J. Metallo- β -lactamases withstand low Zn (II) conditions by tuning metal-ligand interactions. **Nature chemical biology**, v. 8, n. 8, p.698-700, 2012.

GONZÁLEZ, J. M.; MARTÍN, F. J. M.; COSTELLO, A. L.; TIERNEY, D. L.; VILA, A. J. The Zn²⁺ position in metallo- β -lactamases is critical for activity: a study on chimeric metal sites on a conserved protein scaffold. **Journal of molecular biology**, v. 373, n. 373, p.1141-1156, 2007.

GOSS-SOUZA, D.; MENDES, L. W.; BORGES, C. D.; BARETTA, D.; TSAI, S. M.; RODRIGUES, J. L. Soil microbial community dynamics and assembly under long-term land use change. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 10, p. fix109, 2017.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, H. Princípios da Utilização Prudente e Racional de Antimicrobianos em Animais. In: GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. **Guia de Antimicrobianos em Veterinária**. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 17-29.

GUERRERO, M. G. G. Sporulation, Structure Assembly, and Germination in the Soil Bacterium *Bacillus thuringiensis*: Survival and Success in the Environment and the Insect Host. **Microbiology Research**, v. 14, n. 2, p. 466-491, 2023.

GURON, G. K.; ARANGO-ARGOTY, G.; ZHANG, L.; PRUDEN, A.; PONDER, M. A. Effects of dairy manure-based amendments and soil texture on lettuce-and radish-associated

microbiota and resistomes. **Mosphere**, v. 4, n. 3, p. 10-1128, 2019.

HABIG, J.; SWANEPOEL, C. Effects of conservation agriculture and fertilization on soil microbial diversity and activity. **Environments**, v. 2, n. 3, p. 358-384, 2015.

HAHNE, J.; ISELE, D.; HEILBORN, D. H. V.; CZAJA-HASSE, L.; HÜTTEL, B.; LIPSKI, A. *Galactobacter caseinivorans* gen. nov., sp. nov. and *Galactobacter valiniphilus* sp. nov., two novel species of the family Micrococcaceae, isolated from high bacterial count raw cow's milk. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 69, n. 9, p. 2862-2869, 2019.

HAMZA, E.; DORGHAM, S. M.; HAMZA, D. A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in broiler poultry farming in Egypt. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 7, p. 8–10, 2016.

HANDAM, N. B.; SILVA, A. B. L. G. D.; MARTINS, A. S.; SANTOS, J. A. A. D. Agricultural reuse: comparison between Brazilian and international quality standards. **International Journal of Hidrology**, v. 5, p. 28-31, 2021.

HANDAM, N. B.; SILVA, A. B. L. G.; SILVA, R. B.; MOURA, P. G.; CARVAJAL, E.; SOTERO-MARTINS, A.; SANTOS, J. A. A. D. Qualidade sanitária de águas de reúso para irrigação na agricultura no Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 17, p. e2809, 2022.

HE, Y.; YUAN, Q.; MATHIEU, J.; STADLER, L.; SENEHI, N.; SUN, R.; ALVAREZ, P. J. Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment. **NPJ Clean Water**, v. 3, n. 1, p. 4, 2020.

HECK, K.; MARCO, É. G.; DUARTE, M. W.; SALAMONI, S. P.; VAN DER SAND, S. Pattern of multiresistant to antimicrobials and heavy metal tolerance in bacteria isolated from sewage sludge samples from a composting process at a recycling plant in southern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, p. 1-11, 2015.

HENAO, S. G.; GHNEIM-HERRERA, T. Heavy metals in soils and the remediation potential of bacteria associated with the plant microbiome. **Frontiers in Environmental Science**, v. 9, p. 604216, 2021.

HERNANI, L. C.; FREITAS, P. D.; PRUSKI, F. F.; MARIA, I. C.; FILHO, C. D. C.; LANDERS, J. N. **A erosão e seu impacto: uso agrícola dos solos brasileiros**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002.

HEUER, H.; SOLEHATI, Q.; ZIMMERLING, U.; KLEINEIDAM, K.; SCHLOTER, M.; MÜLLER, T.; FOCKS, A.; THIELE-BRUHN, S.; SMALLA, K. Accumulation of sulfonamide resistance genes in arable soils due to repeated application of manure containing sulfadiazine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 7, p. 2527-2530, 2011.

HEYDARI, A.; KIM, N. D.; HORSWELL, J.; GIELEN, G.; SIGGINS, A.; TAYLOR, M.; BROMHEAD, C.; PALMER, B. R. Co-selection of heavy metal and antibiotic resistance in soil bacteria from agricultural soils in New Zealand. **Sustainability**, v. 14, n. 3, p. 1790, 2022.

HICKS, M. H. Results of new FDA rules on antibiotic use in US food-producing animals. **Journal of Public Health**, v. 42, n. 4, p. e573-e574, 2020.

HIRAISHI, A.; IMHOFF, J. F. Rhodoplanes. In: RAINEY, F.; KÄMPFER, P.; TRUJILLO, M.; CHUN, J.; DEVOS, P.; HEDLUND, B.; DEDYSH, S. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**. Hoboken, NJ: Wiley, 2015. p. 1-12.

HOELZER, K.; WONG, N.; THOMAS, J.; TALKINGTON, K.; JUNGMAN, E.; COUKELL, A. Antimicrobial drug use in food-producing animals and associated human health risks: what, and how strong, is the evidence? **BMC veterinary research**, v. 13, p. 1-38, 2017.

HOU, J.; WAN, W.; MAO, D.; WANG, C.; MU, Q.; QIN, S.; LUO, Y. Occurrence and distribution of sulfonamides, tetracyclines, quinolones, macrolides, and nitrofurans in livestock manure and amended soils of Northern China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 4545-4554, 2015.

HU, H. W.; WANG, J. T.; SINGH, B. K.; LIU, Y. R.; CHEN, Y. L.; ZHANG, Y. J.; HE, J. Z. Diversity of herbaceous plants and bacterial communities regulates soil resistome across forest biomes. **Environmental microbiology**, v. 20, n. 9, p. 3186-3200, 2018.

IBEKWE, A.; DURSO, L.; DUCEY, T. F.; OLADEINDE, A.; JACKSON, C. R.; FRYE, J. G.; DUNGAN, R.; MOORMAN, T.; BROOKS, J. P.; OBAYIUWANA, A.; KARATHIA, H.; FANELLI, B.; HASAN, N. Diversity of Plasmids and Genes Encoding Resistance to Extended-Spectrum β -Lactamase in *Escherichia coli* from Different Animal Sources. **Microorganisms**, v. 9, n. 5, p. 1057, 2021.

IMRAN, M.; DAS, K. R.; NAIK, M. M. Co-selection of multi-antibiotic resistance in bacterial pathogens in metal and microplastic contaminated environments: An emerging health threat. **Chemosphere**, v. 215, p. 846-857, 2019.

JACOBSEN, C. S.; HJELMSØ, M. H. Agricultural soils, pesticides and microbial diversity. **Current opinion in biotechnology**, v. 27, p. 15-20, 2014.

JOHNS, I. C.; ADAMS, E. L. Trends in antimicrobial resistance in equine bacterial isolates: 1999-2012. **Veterinary Record**, v. 176, n. 13, p. 334-334, 2015.

JUNIOR, A. C. G.; LUCHESE, E. B.; LENZI, E. Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e cromo, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 173-177, 2000.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. **Factoextra**: Extract and visualize the results of multivariate data analyses. R Packag, 2018.

KHAN, A. U.; MARYAM, L.; ZARRILLI, R. Structure, Genetics and Worldwide Spread of New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. **BMC Microbiology**, v. 17, n. 1, 2017.

KNAPP, C. W.; CALLAN, A. C.; AITKEN, B.; SHEARN, R.; KOENDERS, A.; HINWOOD, A. Relationship between antibiotic resistance genes and metals in residential soil samples from Western Australia. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 2484-2494,

2017.

KNAPP, C. W.; MCCLUSKEY, S. M.; SINGH, B. K.; CAMPBELL, C. D.; HUDSON, G.; GRAHAM, D. W. Antibiotic resistance gene abundances correlate with metal and geochemical conditions in archived Scottish soils. **PloS one**, v. 6, n. 11, p. e27300, 2011.

KOMAR, S.; MISKEWITZ, R.; WESTENDORF, M.; WILLIAMS, C. A. Effects of bedding type on compost quality of equine stall waste: Implications for small horse farms. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 1069-1075, 2012.

KORISH, M. A.; ATTIA, Y. A. Evaluation of heavy metal content in feed, litter, meat, meat products, liver, and table eggs of chickens. **Animals**, v. 10, n. 4, p. 727, 2020.

KUTSZEPA D. O uso indiscriminado de antibióticos na bovinocultura leiteira uma análise dos riscos para o meio ambiente e a saúde humana. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 5, p.1, 2009.

KYAKUWAIRE, M.; OLUPOT, G.; AMODING, A.; NKEDI-KIZZA, P.; BASAMBA, T. A. How safe is chicken litter for land application as an organic fertilizer?: A review. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 19, p. 3521, 2019.

LANNA, A. S. R. D.; FERNANDES, K. C. B.; CLEMENTINO, M. B. M.; BRITO, A. S. G. D. **Pesquisa de microrganismos resistentes aos metais pesados e de mecanismo de co-resistência e resistência cruzada aos antimicrobianos na baía de guanabara**. FIOCRUZ: Instituto Nacional de controle de qualidade em saúde. 2022.

LARSSON, D. G. J.; FLACH, C. F. Antibiotic resistance in the environment. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 257-269, 2022.

LAURENCE, J. **Biologia: Ensino Médio**. São Paulo: Nova Geração, 2005. 696 p.

LEAL, R. M. P.; FIGUEIRA, R. F.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. Occurrence and sorption of fluoroquinolones in poultry litters and soils from São Paulo State, Brazil. **Science of the total Environment**, v. 432, p. 344-349, 2012.

LEMONS, L. N.; PEDRINHO, A.; VASCONCELOS, A. T. R.; TSAI, S. M.; MENDES, L. W. Amazon deforestation enriches antibiotic resistance genes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 153, p. 108110, 2021.

LENTZ, S. A. M. **Atualização sobre Uso Racional de Antimicrobianos e Boas Práticas de Produção**: Trabalhando juntos para combater a resistência aos antimicrobianos (2022). Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/publicacoes/Apostila_AtualizaosobreUsoRacionaldeAntimicrobianoseBoasPraticasdeProduo.pdf. Acesso em: 20 jun. 2023.

LI, H. Z.; YANG, K.; LIAO, H.; LASSEN, S. B.; SU, J. Q.; ZHANG, X.; CUI, L.; ZHU, Y. G. Active antibiotic resistance in soils unraveled by single-cell isotope probing and targeted metagenomics. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 119, n. 40, p. e2201473119, 2022.

LIMA, M.; ARAUJO, B. M. D.; SOARES, S. R. A.; SANTOS, A. S. P.; VIEIRA, J. M. P. Water reuse potential for irrigation in Brazilian hydrographic regions. **Water Supply**, v. 21, n. 6, p. 2799-2810, 2021.

LIMANSKY, A. S.; MUSSI, M. A.; VIALE, A. M. Loss of a 29-Kilodalton Outer Membrane Protein in *Acinetobacter baumannii* Is Associated with Imipenem Resistance. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 12, p. 4776-4778, 2002.

LONDOÑO-FRANCO, L. F.; LONDOÑO-MUÑOZ, P. T.; MUÑOZ-GARCÍA, F. G. Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. **Biotechnología en el sector agropecuario y agroindustrial**, v. 14, n. 2, p. 145-153, 2016.

LOPES, E. S.; PARENTE, C. E.; PICÃO, R. C.; SELDIN, L. Irrigation Ponds as Sources of Antimicrobial-Resistant Bacteria in Agricultural Areas with Intensive Use of Poultry Litter. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, p. 1650, 2022.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de Brock**. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MAGIORAKOS, A. P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R. B.; CARMELI, Y.; FALAGAS, M. E.; GISKE, C. G.; HARBARTH, S.; HINDLER, J. F.; KAHLMETER, G.; OLSSON-LILJEQUIST, B.; PATERSON, D. L.; RICE, L. B.; STELLING, J.; STRUELENS, M. J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J. T.; MONNET, D. L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268-281, 2012.

MAJEWSKI, P.; WIECZOREK, P.; OJDANA, D.; SIENKO, A.; KOWALCZUK, O.; SACHA, P.; NIKLINSKI, J. TRYNISZEWSKA, E. Altered Outer Membrane Transcriptome Balance with AmpC Overexpression in Carbapenem-Resistant *Enterobacter cloacae*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 1, de 13 de janeiro de 2020** (2020). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/INM000000012020.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2023.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 14 de 17 de maio de 2012**. Regulamento para a importação, fabricação e uso das substâncias antimicrobianas espiramicina e eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico na alimentação animal (2012). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-14-de-17-de-maio-de-2012.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2024.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 26 de 09 de julho de 2009**. Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário (2009). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos->

agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-26-de-9-de-julho-de-2009.pdf/view. Acesso em: 15 jan. 2024.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016** (2016). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-45-de-22-de-novembro-de-2016.pdf/view>. Acesso em: 16 jan. 2024.

MARGUERETTAZ, M.; DIEPPOIS, G.; QUE, Y. A.; DUCRET, V.; ZUCHUAT, S.; PERRON, K. Sputum containing zinc enhances carbapenem resistance, biofilm formation and virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbial Pathogenesis**, v. 77, p. 36–41, 2014.

MARKERT, B. Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 21, p. 77-82, 2007.

MARQUES, M. C.; GRELLE, C. E. The Atlantic Forest. History, Biodiversity, Threats and Opportunities of the Mega-diverse Forest. **Springer International Publishing**, 2021.

MARTINEZ, J. L.; SÁNCHEZ, M. B.; MARTÍNEZ-SOLANO, L.; HERNANDEZ, A.; GARMENDIA, L.; FAJARDO, A.; ALVAREZ-ORTEGA, C. Functional role of bacterial multidrug efflux pumps in microbial natural ecosystems. **FEMS microbiology reviews**, v. 33, n. 2, p. 430-449, 2009.

MARTINS-SILVA, P.; DIAS, C. D. P.; VILAR, L. C.; QUEIROZ SILVA, S.; ROSSI, C. C.; GIAMBIAGI-DEMARVAL, M. Dispersion and persistence of antimicrobial resistance genes among *Staphylococcus* spp. and *Mammaliicoccus* spp. isolated along a swine manure treatment plant. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 12, p. 34709-34719, 2023.

MARTONE-ROCHA, S.; DROPA, M.; CRUZ, B. M. C.; LEITE, D. B. M. O.; SANTOS, T. P.; RAZZOLINI, M. T. P. Antimicrobial profile of non-typhoidal *Salmonella* isolated from raw sewage in the Metropolitan Region of São Paulo, Brazil. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 17, n. 1, p. 86-92, 2023.

MATHEW, R. P.; FENG, Y. C.; GITHINJI, L.; ANKUMAH, R.; BALKCOM, K. S. Impact of no-tillage and conventional tillage systems on soil microbial communities. **Applied and Environmental Soil Science**, v. 2012, n. 1, p. 548620, 2012.

MAZHAR, S. H.; LI, X.; RASHID, A.; SU, J.; XU, J.; BREJNROD, A. D.; SU, J.Q.; WU, Y.; ZHU, Y. G.; ZHOU, S. G.; FENG, R.; RENSING, C. Co-selection of antibiotic resistance genes, and mobile genetic elements in the presence of heavy metals in poultry farm environments. **Science of The Total Environment**, v. 755, p. 142702, 2021.

MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. **Microbiology Spectrum**, v. 6, p. 521-547, 2018.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PloS one**, v. 8, n. 4, p. e61217, 2013.

MELETIS, G. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. **Therapeutic Advances in Infectious Disease**, v. 3, n. 1, p. 15–21, 2016.

MENA, A.; PLASENCIA, V.; GARCÍA, L.; HIDALGO, O.; AYESTARÁN, J. I.; ALBERTI, S.; BORRELL, N.; PÉREZ, J. L.; OLIVER, A. Characterization of a Large Outbreak by CTX-M-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* and Mechanisms Leading to In Vivo Carbapenem Resistance Development. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 8, p. 2831–2837, 2006.

MENDES, L. W.; BROSSI, M. J. L.; KURAMAE, E. E.; TSAI, S. M. Land-use system shapes soil bacterial communities in Southeastern Amazon region. **Applied soil ecology**, v. 95, p. 151-160, 2015.

METHE, M.; EZE, P. N.; RAHUBE, T. O.; AKINYEMI, F. O. Soil properties influence bacterial abundance and diversity under different land-use regimes in semi-arid environments. **Scientific African**, v. 7, p. e00246, 2020.

MINARI, G. D.; ROSALEN, D. L.; CRUZ, M. C. P.; MELO, W. J.; ALVES, L. M. C.; SARAN, L. M. Agricultural management of an Oxisol affect accumulation of heavy metals. **Chemosphere**, v. 185, p. 344-350, 2017.

MIRYALA, S. K.; ANBARASU, A.; RAMAIAH, S. Gene interaction network approach to elucidate the multidrug resistance mechanisms in the pathogenic bacterial strain *Proteus mirabilis*. **Journal of Cellular Physiology**, v. 236, n. 1, p. 468-479, 2021.

MIYASHITA, N. T. Contrasting soil bacterial community structure between the phyla Acidobacteria and Proteobacteria in tropical Southeast Asian and temperate Japanese forests. **Genes & genetic systems**, v. 90, n. 2, p. 61-77, 2015.

MONTENEGRO, K.; FLORES, C.; NASCIMENTO, A. P. A.; FARIAS, B. O.; BRITO, A. S. G.; MAGALDI, M.; GIMENEZ, A.; FILIPPIS, I.; CLEMENTINO, M. M.; BIANCO, K.; SAGGIORO, E.; BARROCAS, P. Occurrence of *Klebsiella pneumoniae* ST244 and ST11 extensively drug-resistant producing KPC, NDM, OXA-370 in wastewater, Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, n. 7, p. 1x4130, 2023.

MORAES, B. A. **Antibioticoterapia para infecções respiratórias em equinos**. 2012. 56 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2012.

MOURA, P. G.; ARANHA, F. N.; HANDAM, N. B.; MARTIN, L. E.; SALLES, M. J.; CARVAJAL, E.; JARDIM, E.; SOTERO-MARTINS, A. Água de reúso: uma alternativa sustentável para o Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 25, n. 6, p. 791-808, 2020.

MS. Ministério da Saúde. **Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da Saúde Única 2018-2022 (PAN-BR)** (2018). Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/antimicrobianos/plano-nacional-antimicrobianos-pan-br-14fev19-isbn.pdf/view>. Acesso em: 15 jan. 2024.

MUHAMMAD, J.; KHAN, S.; SU, J. Q.; HESHAM, A. E. L.; DITTA, A.; NAWAB, J.; ALI, A. Antibiotics in poultry manure and their associated health issues: a systematic review. **Journal of Soils and Sediments**, v. 20, p. 486-497, 2020.

MULCHANDANI, R.; WANG, Y.; GILBERT, M.; VAN BOECKEL, T. P. Global trends in antimicrobial use in food-producing animals: 2020 to 2030. **PLOS Global Public Health**, v. 3, n. 2, p. e0001305, 2023.

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Virulence mechanisms of bacterial pathogens**, p. 481-511, 2016.

NAGHAVI, M.; VOLLSET, S. E.; IKUTA, K. S.; SWETSCHINSKI, L. R.; GRAY, A. P.; WOOL, E. E.; ROBLES AGUILAR, G.; MESTROVIC, T.; SMITH, G.; HAN, C.; HSU, R. L.; CHALEK, J.; ARAKI, D. T.; CHUNG, E.; RAGGI, C.; GERSHBERG HAYOON, A.; DAVIS WEAVER, N.; LINDSTEDT, P. A.; SMITH, A. E.; ALTAY, U.; BHATTACHARJEE, N. V.; GIANNIKAS, K.; FELL, F.; MCMANIGAL, B.; EKAPIRAT, N.; MENDES, J. A.; RUNGHIE, T.; SRIMOKLA, O.; ABDELKADER, A.; ABD-ELSALAM, S.; ABOAGYE, R. G.; ABOLHASSANI, H.; ABUALRUZ, H.; ABUBAKAR, U.; ABUKHADIJAH, H. J.; ABURUZ, S.; ABU-ZAID, A.; ACHALAPONG, S.; ADDO, I. Y.; ADEKANMBI, V.; ADEYEOLUWA, T. E.; ADNANI, Q. E. S.; ADZIGBLI, L. A.; AFZAL, M. S.; AFZAL, S.; AGODI, A.; AHLSTROM, A. J.; AHMAD, A.; AHMAD, S.; AHMAD, T.; AHMADI, A.; AHMED, A.; AHMED, H.; AHMED, I.; AHMED, M.; AHMED, S.; AHMED, S. A.; AKKAIF, M. A.; AL AWAIDY, S.; AL THAHER, Y.; ALALALMEH, S. O.; ALBATAINEH, M. T.; ALDHALEEI, W. A.; AL-GHEETHI, A. A. S.; ALHAJI, N. B.; ALI, A.; ALI, L.; ALI, S. S.; ALI, W.; ALLEL, K.; AL-MARWANI, S.; ALRAWASHDEH, A.; ALTAF, A.; ALTAMMEMI, A. B.; AL-TAWFIQ, J. A.; ALZOUBI, K. H.; AL-ZYOUN, W. A.; AMOS, B.; AMUASI, J. H.; ANCUCEANU, R.; ANDREWS, J. R.; ANIL, A.; ANUOLUWA, I. A.; ANVARI, S.; ANYASODOR, A. E.; APOSTOL, G. L. C.; ARABLOO, J.; ARAFAT, M.; ARAVKIN, A. Y.; AREDA, D.; AREMU, A.; ARTAMONOV, A. A.; ASHLEY, E. A.; ASIKA, M. O.; ATHARI, S. S.; ATOUT, M. M. W.; AWOKE, T.; AZADNAJAFABAD, S.; AZAM, J. M.; AZIZ, S.; AZZAM, A. Y.; BABAEI, M.; BABIN, F.-X.; BADAR, M.; BAIG, A. A.; BAJCETIC, M.; BAKER, S.; BARDHAN, M.; BARQAWI, H. J.; BASHARAT, Z.; BASIRU, A.; BASTARD, M.; BASU, S.; BAYLEYEGN, N. S.; BELETE, M. A.; BELLO, O. O.; BELOUKAS, A.; BERKLEY, J. A.; BHAGAVATHULA, A. S.; BHASKAR, S.; BHUYAN, S. S.; BIELICKI, J. A.; BRIKO, N. I.; BROWN, C. S.; BROWNE, A. J.; BUONSENSO, D.; BUSTANJI, Y.; CARVALHEIRO, C. G.; CASTAÑEDA-ORJUELA, C. A.; CENDERADEWI, M.; CHADWICK, J.; CHAKRABORTY, S.; CHANDIKA, R. M.; CHANDY, S.; CHANSAMOUTH, V.; CHATTU, V. K.; CHAUDHARY, A. A.; CHING, P. R.; CHOPRA, H.; CHOWDHURY, F. R.; CHU, D.-T.; CHUTIYAMI, M.; CRUZ-MARTINS, N.; DA SILVA, A. G.; DADRAS, O.; DAI, X.; DARCHO, S. D.; DAS, S.; DE LA HOZ, F. P.; DEKKER, D. M.; DHAMA, K.; DIAZ, D.; DICKSON, B. F. R.; DJORIE, S. G.; DODANGEH, M.; DOHARE, S.; DOKOVA, K. G.; DOSHI, O. P.; DOWOU, R. K.; DSOUZA, H. L.; DUNACHIE, S. J.; DZIEDZIC, A. M.; ECKMANN, T.; ED-DRA, A.; EFTEKHARIMEHRABAD, A.; EKUNDAYO, T. C.; EL SAYED, I.; ELHADI, M.; ELHUNEIDI, W.; ELIAS, C.; ELLIS, S. J.; ELSHEIKH, R.; ELSOHABY, I.; ELTAHA, C.; ESHRATI, B.; ESLAMI, M.; EYRE, D. W.; FADAKA, A. O.; FAGBAMIGBE, A. F.; FAHIM, A.; FAKHRI-DEMESHGHIEH, A.; FASINA, F. O.; FASINA, M. M.; FATEHIZADEH, A.; FEASEY, N. A.; FEIZKHAH, A.; FEKADU, G.; FISCHER, F.; FITRIANA, I.; FORREST, K. M.; FORTUNA RODRIGUES, C.; FULLER, J. E.; GADANYA, M. A.; GAJDÁCS, M.; GANDHI, A. P.; GARCIA-GALLO, E. E.; GARRETT,

D. O.; GAUTAM, R. K.; GEBREGERGIS, M. W.; GEBREHIWOT, M.; GEBREMESKEL, T. G.; GEFFERS, C.; GEORGALIS, L.; GHAZY, R. M.; GOLECHHA, M.; GOLINELLI, D.; GORDON, M.; GULATI, S.; GUPTA, R. D.; GUPTA, S.; GUPTA, V. K.; HABTEYOHAANES, A. D.; HALLER, S.; HARAPAN, H.; HARRISON, M. L.; HASABALLAH, A. I.; HASAN, I.; HASAN, R. S.; HASANI, H.; HASELBECK, A. H.; HASNAIN, M. S.; HASSAN, I. I.; HASSAN, S.; HASSAN ZADEH TABATABAEI, M. S.; HAYAT, K.; HE, J.; HEGAZI, O. E.; HEIDARI, M.; HEZAM, K.; HOLLA, R.; HOLM, M.; HOPKINS, H.; HOSSAIN, M. M.; HOSSEINZADEH, M.; HOSTIUC, S.; HUSSEIN, N. R.; HUY, L. D.; IBÁÑEZ-PRADA, E. D.; IKIROMA, A.; ILIC, I. M.; ISLAM, S. M. S.; ISMAIL, F.; ISMAIL, N. E.; IWU, C. D.; IWU-JAJA, C. J.; JAFARZADEH, A.; JAITEH, F.; JALILZADEH YENGEJEH, R.; JAMORA, R. D. G.; JAVIDNIA, J.; JAWAID, T.; JENNEY, A. W. J.; JEON, H. J.; JOKAR, M.; JOMEHZADEH, N.; JOO, T.; JOSEPH, N.; KAMAL, Z.; KANMODI, K. K.; KANTAR, R. S.; KAPISI, J. A.; KARAYE, I. M.; KHADER, Y. S.; KHAJURIA, H.; KHALID, N.; KHAMESIPOUR, F.; KHAN, A.; KHAN, M. J.; KHAN, M. T.; KHANAL, V.; KHIDRI, F. F.; KHUBCHANDANI, J.; KHUSUWAN, S.; KIM, M. S.; KISA, A.; KORSHUNOV, V. A.; KRAPP, F.; KRUMKAMP, R.; KUDDUS, M.; KULIMBET, M.; KUMAR, D.; KUMARAN, E. A. P.; KUTTIKKATTU, A.; KYU, H. H.; LANDIRES, I.; LAWAL, B. K.; LE, T. T. T.; LEDERER, I. M.; LEE, M.; LEE, S. W.; LEPAPE, A.; LERANGO, T. L.; LIGADE, V. S.; LIM, C.; LIM, S. S.; LIMENH, L. W.; LIU, C.; LIU, X.; LIU, X.; LOFTUS, M. J.; LYNCH, K. M.; MAASS, K. L.; MAHARAJ, S. B.; MAHMOUD, M. A.; MAIKANTI-CHARALAMPOUS, P.; MAIKRAM, O. M.; MALEKI, A. A.; MANDILARA, G. D.; MARKS, F.; MARTINEZ-GUERRA, B. A.; MARTORELL, M.; MASOUMI-ASL, H.; MATHIOUDAKIS, A. G.; MAY, J.; MCMAHON, T. H.; MEIRING, J.; MELES, H. N.; MINERVINI, G.; MOHAMED, N. S.; MOHAMMED, S.; MOHAN, S.; MOKDAD, A. H.; MONASTA, L.; MOODI GHALIBAF, A.; MOORE, C. E.; MORADI, Y.; MOSSIALOS, E.; MOUGIN, V.; MUKORO, G. D.; MULITA, F.; MULLER-PEBODY, B.; MURILLO-ZAMORA, E.; MUSA, S.; MUSICHA, P.; MUSILA, L. A.; MUTHUPANDIAN, S.; NAGHAVI, P.; NAINU, F.; NAIR, T. S.; NAJMULDEEN, H. H. R.; NATTO, Z. S.; NAUMAN, J.; NAYAK, B. P.; NCHANJI, G. T.; NDISHIMYE, P.; NEGOI, I.; NEGOI, R. I.; NEJADGHADERI, S. A.; NGUYEN, Q. P.; NOMAN, E. A.; NWAKANMA, D. C.; O'BRIEN, S.; OCHOA, T. J.; ODETOKUN, I. A.; OGUNDIJO, O. A.; OJO-AKOSILE, T. R.; OKEKE, S. R.; OKONJI, O. C.; OLAGUNJU, A. T.; OLIVAS-MARTINEZ, A.; OLORUKOGBA, A. A.; OLWOCH, P.; ONYEDIBE, K. I.; ORTIZ-BRIZUELA, E.; OSUOLALE, O.; OUNCHANUM, P.; OYEYEMI, O. T.; PADUKUDRU, M. P.; PAREDES, J. L.; PARIKH, R. R.; PATEL, J.; PATIL, S.; PAWAR, S.; PELEG, A. Y.; PEPRAH, P.; PERDIGÃO, J.; PERRONE, C.; PETCU, I.-R.; PHOMMASONE, K.; PIRACHA, Z. Z.; PODDIGHE, D.; POLLARD, A. J.; POLURU, R.; PONCE-DE-LEON, A.; PUVVULA, J.; QAMAR, F. N.; QASIM, N. H.; RAFAI, C. D.; RAGHAV, P.; RAHBARNIA, L.; RAHIM, F.; RAHIMI-MOVAGHAR, V.; RAHMAN, M.; RAHMAN, M. A.; RAMADAN, H.; RAMASAMY, S. K.; RAMESH, P. S.; RAMTEKE, P. W.; RANA, R. K.; RANI, U.; RASHIDI, M.-M.; RATHISH, D.; RATTANAVONG, S.; RAWAF, S.; REDWAN, E. M. M.; REYES, L. F.; ROBERTS, T.; ROBOTHAM, J. V.; ROSENTHAL, V. D.; ROSS, A. G.; ROY, N.; RUDD, K. E.; SABET, C. J.; SADDIN, B. A.; SAEB, M. R.; SAEED, U.; SAEEDI MOGHADDAM, S.; SAENGCHAN, W.; SAFAI, M.; SAGHAZADEH, A.; SHARIF-ASKARI, N. S.; SHARIF-ASKARI, N.S.; SAHEBKAR, A.; SAHOO, S. S.; SAHU, M.; SAKI, M.; SALAM, N.; SALEEM, Z.; SALEH, M. A.; SAMODRA, Y. L.; SAMY, A. M.; SARAVANAN, A.; SATPATHY, M.; SCHUMACHER, A. E.; SEDIGHI, M.; SEEKAEW, S.; SHAFIE, M.; SHAH, P. A.; SHAHID, S.; SHAHWAN, M. J.; SHAKOOR, S.; SHALEV, N.; SHAMIM, M. A.; SHAMSHIRGARAN, M. A.; SHAMSI, A.; SHARIFAN, A.; SHASTRY, R. P.; SHETTY, M.; SHITTU, A.; SHRESTHA, S.; SIDDIG, E. E.; SIDEROGLOU, T.; SIFUENTES-OSORNIO,

J.; SILVA, L. M. L. R.; SIMÕES, E. A. F.; SIMPSON, A. J. H.; SINGH, A.; SINGH, S.; SINTO, R.; SOLIMAN, S. S. M.; SORANEH, S.; STOESSER, N.; STOEVA, T. Z.; SWAIN, C. K.; SZARPAK, L.; SREE SUDHA, T. Y.; TABATABAI, S.; TABCHE, C.; TAHA, Z. M.-A.; TAN, K.-K.; TASAK, N.; TAT, N. Y.; THAIPRAKONG, A.; THANGARAJU, P.; TIGOI, C. C.; TIWARI, K.; TOVANI-PALONE, M. R.; TRAN, T. H.; TUMURKHUU, M.; TURNER, P.; UDOAKANG, A. J.; UDOH, A.; ULLAH, N.; ULLAH, S.; VAITHINATHAN, A. G.; VALENTI, M.; VOS, T.; VU, H. T. L.; WAHEED, Y.; WALKER, A. S.; WALSON, J. L.; WANGRANGSIMAKUL, T.; WEERAKOON, K. G.; WERTHEIM, H. F. L.; WILLIAMS, P. C. M.; WOLDE, A. A.; WOZNIAK, T. M.; WU, F.; WU, Z.; YADAV, M. K. K.; YAGHOUBI, S.; YAHAYA, Z. S.; YARAHMADI, A.; YEZLI, S.; YISMAW, Y. E.; YON, D. K.; YUAN, C.-W.; YUSUF, H.; ZAKHAM, F.; ZAMAGNI, G.; ZHANG, H.; ZHANG, Z.-J.; ZIELIŃSKA, M.; ZUMLA, A.; ZYOUD, S. H. H.; ZYOUD, S. H.; HAY, S. I.; STERGACHIS, A.; SARTORIUS, B.; COOPER, B. S.; DOLECEK, C.; MURRAY, C. J. L. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. **The Lancet**, v. 404, n. 10459, p. 1199-1226, 2024.

NAVARRETE, A. A.; KURAMAE, E. E.; HOLLANDER, M.; PIJL, A. S.; VEEN, J. A. V.; TSAI, S. M. Acidobacterial community responses to agricultural management of soybean in Amazon forest soils. **FEMS microbiology ecology**, v. 83, n. 3, p. 607-621, 2013.

NESME, J.; SIMONET, P. The soilresistome: a critical review on antibiotic resistance origins, ecology and dissemination potential in telluric bacteria. **Environmental microbiology**, v. 17, n. 4, p. 913-930, 2015.

NGUYEN, C. C.; HUGIE, C. N.; KILE, M. L. Daneshmand, t.n. Association between heavy metals and antibiotic-resistant human pathogens in environmental reservoirs: A review. **Front. Environ. Sci. Eng**, v.13, p.1-17, 2019.

NHUNG, N. T.; CHANSIRIPORNCHAI, N.; CARRIQUE-MAS, J. J. Antimicrobial Resistance in Bacterial Poultry Pathogens: A Review. **Frontiers in veterinary science**, v. 4, p. 126, 2017.

NICOLOSO, R. S.; LOURENZI, C. R.; BRUNETTO, G. **Gestão dos resíduos da produção animal: reciclagem como fertilizante e qualidade do solo**. Brasília, DF: Embrapa; Concórdia: Sbera, 2024. 283 p.

NIES, D. H. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 2-3, p. 313–339, 2003.

NIES, D. H. Microbial heavy-metal resistance. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, n. 6, p. 730–750, 1999.

NIES, D. H. The cobalt, zinc, and cadmium efflux system CzcABC from *Alcaligenes eutrophus* functions as a cation-proton antiporter in *Escherichia coli*. **Journal of bacteriology**, v. 177, n. 10, p. 2707–2712, 1995.

NIKAIDO, H. Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 178, n. 20, p. 5853–5859, 1996.

NISHINO, K.; NIKAIDO, E.; YAMAGUCHI, A. Regulation of Multidrug Efflux Systems Involved in Multidrug and Metal Resistance of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. **Journal of Bacteriology**, v. 189, n. 24, p. 9066–9075, 2007.

NIST. National Institute of Standards and Technology. **Standard Reference Materials - SRM 2709** (2003).

NIX, D. E.; MAJUMDAR, A. K.; DINUBILE, M. J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ertapenem: an overview for clinicians. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, n. suppl_2, p. ii23–ii28, 2004.

NÚÑEZ, J. E. V.; SOBRINHO, N. M. B. D. A.; MAZUR, N. Sistemas de preparo de solo e acúmulo de metais pesados no solo e na cultura do pimentão (*Capsicum Annum* L.). **Ciência Rural**, v. 36, p. 113-119, 2006.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H. **Vegan: Community Ecology Package**. Vienna: R Found. Stat. Comput. Sch, 2016.

OLIVEIRA, C. C. D. **Ocorrência de genes de resistência a antimicrobianos em solos de área agrícola e de reserva legal em Nova Friburgo, RJ**. 2019. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2019.

OLIVEIRA, C. C.; LOPES, E. S.; BARBOSA, D. R.; PIMENTA, R. L.; SOBRINHO, N. M. B. A.; COELHO, S. M. O.; SOUZA, M. M. S.; COELHO, I. S. Occurrence of the colistin resistance *mcr-1* gene in soils from intensive vegetable production and native vegetation. **European Journal of Soil Science**, v. 70, n. 4, p. 876-881, 2019.

O'NEILL, J. **Antimicrobials in agriculture and the environment: reducing unnecessary use and waste** (2015). Disponível em: <https://amr-review.org/sites/default/files/Antimicrobials%20in%20agriculture%20and%20the%20environment%20-%20Reducing%20unnecessary%20use%20and%20waste.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2023.

O'NEILL, J. **Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations** (2016). Disponível em: https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf. Acesso em: 21 nov. 2023.

PAL, C.; ASIANI, K.; ARYA, S.; RENSING, C.; STEKEL, D. J.; LARSSON, D. G. J.; HOBMAN, J. L. Metal Resistance and its association with antibiotic resistance. **Advances in Microbial Physiology**, v. 70, p. 261–313, 2017.

PALMA, E.; TILOCCA, B.; RONCADA, P. Antimicrobial resistance in veterinary medicine: An overview. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 6, p. 1914, 2020.

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.

PARTRIDGE, S. R.; KWONG, S. M.; FIRTH, N.; JENSEN, S. O. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 31, n. 4, p. 10-1128, 2018.

PARVAGE, M. M.; ULÉN, B.; KIRCHMANN, H. Are horse paddocks threatening water quality through excess loading of nutrients. **Journal of Environmental Management**, v. 147, p. 306-313, 2015.

PATHAK, V. M.; VERMA, V. K.; RAWAT, B. S.; KAUR, B.; BABU, N.; SHARMA, A.; DEWALI, S.; YADAV, M.; KUMARI, R.; SINGH, S.; MOHAPATRA, A.; PANDEY, V.; RANA, N.; CUNILL, J. M. Current status of pesticide effects on environment, human health and it's eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review. **Frontiers in microbiology**, v. 13, p. 962619, 2022.

PATIL, I. ggstatsplot: 'ggplot2' Based Plots with Statistical Details (0.11.0). **Zenodo**, 2023.

PATIL, R.; SONTAKKE, T.; BIRADAR, A.; NALAGE, D. Zinc: an essential trace element for human health and beyond. **Food Health**, v. 5, n. 3, p. 13, 2023.

PENG, Y.; XIAO, Y.; FU, Z.; DONG, Y.; ZHENG, Y.; YAN, H.; LI, X. Precision irrigation perspectives on the sustainable water-saving of field crop production in China: Water demand prediction and irrigation scheme optimization. **Journal of cleaner production**, v. 230, p. 365-377, 2019.

PEREIRA, A. A.; THOMAZ, E. L. Atributos químicos do solo em áreas sob diferentes sistemas de uso e manejo no município de Reserva-PR. **Caminhos de geografia**, v. 16, n. 55, p. 186-194, 2015.

PERRON, K.; CAILLE, O.; ROSSIER, C.; VAN DELDEN, C.; DUMAS, J. L.; KÖHLER, T. CzcR-CzcS, a Two-component System Involved in Heavy Metal and Carbapenem Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 10, p. 8761–8768, 2004.

PERRY, J.; WAGLECHNER, N.; WRIGHT, G. The Prehistory of Antibiotic Resistance. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 6, n. 6, p. a025197, 2016.

PETERSEN, I. A.; MEYER, K. M.; BOHANNAN, B. J. Meta-analysis reveals consistent bacterial responses to land use change across the tropics. **Frontiers in ecology and evolution**, v. 7, p. 391, 2019.

PINTO, L. F. G.; METZGER, J. P.; SPAROVEK, G. **Food production in the Atlantic Forest**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2022.

PIRELA, M. L. R.; SUÁREZ, W. A. B.; VARGAS, M. M. B. Antibiotic-and heavy-metal resistance in bacteria isolated from deep subsurface in El Callao region, Venezuela. **Revista Colombiana de biotecnología**, v. 16, n. 2, p. 141-149, 2014.

PITKIN, D. H.; SHEIKH, W.; NADLER, H. L. Comparative In Vitro Activity of Meropenem Versus Other Extended-Spectrum Antimicrobials Against Randomly Chosen and Selected Resistant Clinical Isolates Tested in 26 North American Centers. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, n. supl. 2, p. 238–248, 1997.

PMNF. Prefeitura Municipal de Nova Friburgo. **Dados gerais** (2015). Disponível em: <http://novafriburgo.rj.gov.br/nova-friburgo/dados-gerais/>. Acesso em: 13 jun. 2023.

POOLE, K. At the nexus of antibiotics and metals: the impact of Cu and Zn on antibiotic activity and resistance. **Trends in microbiology**, v. 25, n. 10, p. 820-832, 2017.

PRIYA, A. K.; GNANASEKARAN, L.; DUTTA, K.; RAJENDRAN, S.; BALAKRISHNAN, D.; SOTO-MOSCOSO, M. Biosorption of heavy metals by microorganisms: Evaluation of different underlying mechanisms. **Chemosphere**, v. 307, p. 135957, 2022.

PULSS, S.; SEMMLER, T.; PRENGER-BERNINGHOFF, E.; BAUERFEIND, R.; EWERS, C. First report of an Escherichia coli strain from swine carrying an OXA-181 carbapenemase and the colistin resistance determinant MCR-1. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, n. 2, p. 232–236, 2017.

QUEENAN, A. M.; BUSH, K. Carbapenemases: The Versatile β -Lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 3, p. 440–458, 2007.

RAMOS-ZÚÑIGA, J.; BRUNA, N.; PÉREZ-DONOSO, J. M. Toxicity mechanisms of copper nanoparticles and copper surfaces on bacterial cells and viruses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 13, p. 10503, 2023.

RASMUSSEN, B. A.; BUSH, K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 2, p. 223–232, 1997.

RAWSON, T. M.; BRZESKA-TRAFNY, I.; MAXFIELD, R.; ALMEIDA, M.; GILCHRIST, M.; GONZALO, X.; MOORE, L. S. P.; DONALDSON, H.; DAVIER, F. A practical laboratory method to determine ceftazidime-avibactam-aztreonam synergy in patients with New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM) producing Enterobacterales infection. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 29, p. 558–562, 2022.

REBELO, A.; ALMEIDA, A.; PEIXE, L.; ANTUNES, P.; NOVAIS, C. Unraveling the role of metals and organic acids in bacterial antimicrobial resistance in the food chain. **Antibiotics**, v. 12, n. 9, p. 1474, 2023.

REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P. Comportamento e Impacto ambiental de antimicrobianos usados na Produção Animal Brasileira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 601–616, 2010.

REULAND, E. A.; AL NAIEMI, N.; RAADSEN, S. A.; SVELKOU, P. H. M.; KLUYTMANS, J. A. J. W.; VANDENBROUCKE-GRAULS, C. M. J. E. Prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in raw vegetables. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 33, p. 1843–1846, 2014.

RIVIÈRE, G.; OUESLATI, S.; GAYRAL, M.; CRÉCHET, J. B.; NHIRI, N.; JACQUET, E.; CINTRAT, J. C.; GIRAUD, F.; HEIJENOORT, C. V.; LESCOP, E.; PETHE, S.; IORGA, B. I.; NAAS, T.; GUITTET, E.; MORELLET, N. NMR Characterization of the Influence of Zinc (II) Ions on the Structural and Dynamic Behavior of the New Delhi Metallo- β -Lactamase-1 and on the Binding with Flavonols as Inhibitors. **ACS omega**, v. 5, n. 18, p. 10466-10480, 2020.

ROBINSON, T. P.; BU, D. P.; CARRIQUE-MAS, J.; FÈVRE, E. M.; GILBERT, M.; GRACE, D.; HAY, S. I.; JIWAKANON, J.; MAKKAR, M.; SARIUKI, S.; LAXMINARAYAN, R.; LUBROTH, J.; MAGNUSSON, U.; NGOC, P. T.; BOECKEL, T. P. V.; WOOLHOUSE, M. E. J. Antibiotic Resistance Is the Quintessential One Health Issue. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 110, n. 7, p. 377-380, 2016.

ROCHA, F. I.; RIBEIRO, T. G.; FONTES, M. A.; SCHWAB, S.; COELHO, M. R. R.; LUMBRERAS, J. F.; MOTTA, P. E. F.; TEIXEIRA, W. G.; COLE, J.; BORSANELLI, A. C.; DUTRA, I. S.; HOWE, A.; OLIVEIRA, A. P.; JESUS, E. D. C. Land-use system and forest floor explain prokaryotic metacommunity structuring and spatial turnover in Amazonian forest-to-pasture conversion areas. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 657508, 2021.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, J. M.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Molecular Epidemiology and Mechanisms of Carbapenem Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 11, p. 4783-4788, 2009.

ROMERO-ESTÉVEZ, D.; YÁNEZ-JÁCOME, G. S.; NAVARRETE, H. Contaminação por metais não essenciais na produção agrícola equatoriana: uma revisão crítica. **Jornal de Composição e Análise de Alimentos**, v. 115, p. 104932, 2023.

RONQUILLO, M. G.; HERNANDEZ, J. C. A. Antibiotic and synthetic growth promoters in animal diets: Review of impact and analytical methods. **Food control**, v. 72, p. 255-267, 2017.

ROSEN, B. P. Bacterial resistance to heavy metals and metalloids. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 1, p. 273-277, 1996.

RYAN, M. P.; PEMBROKE, J. T. *Brevundimonas* spp: Emerging global opportunistic pathogens. **Virulence**, v. 9, n. 1, p. 480-493, 2018.

SANTOS, D. D. S. **Metais pesados em áreas agrícolas e Cerrado nativo no Oeste da Bahia**. 2019. 102 f. Tese (Doutorado em fitotecnia) - Universidade Federal de Uberlândia. 2019.

SANTOS, F. D.; FANTINEL, R. A.; WEILER, E. B.; CRUZ, J. C. Fatores que afetam a disponibilidade de micronutrientes no solo. **Tecno-Lógica**, v. 25, n. 2, 2021.

SAVIN, M.; ALEXANDER, J.; BIERBAUM, G.; HAMMERL, J. A.; HEMBACH, N.; SCHWARTZ, T.; SCHMITHAUSEN, R.; SIB, E.; VOIGT, A.; KREYENSCHMIDT, J. Antibiotic-resistant bacteria, antibiotic resistance genes, and antibiotic residues in wastewater from a poultry slaughter house after conventional and advanced treatments. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 16622, 2021.

SAVIN, M.; BIERBAUM, G.; BLAU, K.; PARCINA, M.; SIB, E.; SMALLA, K.; SCHMITHAUSEN, R.; HEINEMANN, C.; HAMMERL, J. A.; KREYENSCHMIDT, J.

Colistin-resistant Enterobacteriaceae isolated from process waters and wastewater from German poultry and pig slaughterhouses. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 575391, 2020.

SCHMITTGEN, T. D.; LIVAK, K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. **Nature protocols**, v. 3, n. 6, p. 1101-1108, 2008.

SEGATA, N.; IZARD, J.; WALDRON, L.; GEVERS, D.; MIROPOLSKY, L.; GARRETT, W. S.; HUTTENHOWER, C. Metagenomic biomarker discovery and explanation. **Genome biology**, v. 12, p. 1-18, 2011.

SEILER, C.; BERENDONK, T. U. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 399, 2012.

SERWECIŃSKA, L.; KIEDRZYŃSKA, E.; KIEDRZYŃSKI, M. A catchment-scale assessment of the sanitary condition of treated wastewater and river water based on fecal indicators and carbapenem-resistant Acinetobacter spp. **Science of the Total Environment**, v. 750, p. 142266, 2021.

SHAO, Y.; WANG, Y.; YUAN, Y.; XIE, Y. A systematic review on antibiotics misuse in livestock and aquaculture and regulation implications in China. **Science of The Total Environment**, v. 798, p. 149205, 2021.

SHEORAN, A. S.; SHEORAN, V. Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: a critical review. **Minerals engineering**, v. 19, n. 2, p. 105-116, 2006.

SHI, H.; JIANG, Y.; YANG, Y.; PENG, Y.; LI, C. Copper metabolism in Saccharomyces cerevisiae: An update. **Biometals**, v. 34, n. 1, p. 3-14, 2021.

SILVA, J. L. B. C.; LIMA PEQUENO, O. T. B.; ROCHA, L. K. S.; DE ARAÚJO, E. C. O.; MARCIEL, T. A. R.; BARROS, A. J. M. Bio sorção de metais pesados: uma revisão. **Revista Saúde & Ciência**, v. 3, n. 3, p. 137-149, 2014.

SILVA, K. H. D. **Avaliação do perfil de resistência a antimicrobianos e metais pesados em bactérias isoladas de processo de compostagem**. 2011. 109 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2011.

SILVA, T. D. S.; BRITO, D. A. A. Aplicação da contabilidade gerencial para otimização da produção e rentabilidade em propriedades pecuárias. **Revista de Estudos Interdisciplinares do Vale do Araguaia**, v. 7, n. 1, p. 23-23, 2024.

SILVER, S.; PHUNG, L. T. A bacterial view of the periodic table: genes and proteins for toxic inorganic ions. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 32, n. 11-12, p. 587–605, 2005.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Ministério da Educação e Cultura, 1988.

SORIANO, A.; MENSA, J. Mechanism of action of cefiderocol. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 35, n. Suppl2, p. 16-19, 2022.

SOUSA, F. F.; CARMO, M. G. F.; LIMA, E. S. A.; SOUZA, C. C. B.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. Lead and cadmium transfer factors and the contamination of tomato fruits (*Solanum lycopersicum*) in a tropical mountain agroecosystem. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 105, p. 325-331, 2020.

SOUZA, C. D. C. B.; SOBRINHO, N. M. B. A.; LIMA, E. S. A.; LIMA, J. O.; CARMO, M. G. F.; GARCÍA, A. C. Relation between changes in organic matter structure of poultry litter and heavy metals solubility during composting. **Journal of environmental management**, v. 247, p. 291-298, 2019.

SOUZA, G. A. A. D.; CARVALHO, C. M. C.; XAVIER, E. D.; BORGES, L. F. F.; GONÇALVES, S. F.; DE ALMEIDA, A. C. *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina e meropenem em leite de vacas com mastite subclínica. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 98067-98081, 2020.

SOUZA, G. H. R.; RODRIGUES, G. A. O tratamento da cama de equinos através do processo de compostagem. **Revista Interface Tecnológica**, v. 14, n. 2, p. 100-110, 2017.

SPERLING, M. V. Análise dos padrões brasileiros de qualidade de corpos d'água e de lançamento de efluentes líquidos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 3, n. 1, p. 111-132, 1998.

SPERLING, M. V. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: UFMG; 1996.

STEDTFELD, R. D.; GUO, X.; STEDTFELD, T. M.; SHENG, H.; WILLIAMS, M. R.; HAUSCHILD, K.; GUNTURU, S.; TIFT, L.; WANG, F.; HOWE, A.; CHAI, B.; YIN, D.; COLE, J. R.; TIEDJE, J. M.; HASHSHAM, S. A. Primer set 2.0 for highly parallel qPCR array targeting antibiotic resistance genes and mobile genetic elements. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 94, n. 9, p. fiy130, 2018.

STELLA, A. E.; OLIVEIRA, A. F.; MOREIRA, C. N.; VIALI, K. G. Uso de antimicrobianos na suinocultura: Indicações e Restrições. **Veterinária e Zootecnia**, v. 27, p. 1-14, 2020.

STEPANAUSKAS, R.; GLENN, T. C.; JAGOE, C. H.; TUCKFIELD, R. C.; LINDELL, A. H.; MCARTHUR, J. V. Elevated microbial tolerance to metals and antibiotics in metal-contaminated industrial environments. **Environmental science & technology**, v. 39, n. 10, p. 3671-3678, 2005.

SUÁREZ, C.; GUDIOL, F. Antibióticos betalactámicos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 27, n. 2, p. 116 129, 2009.

SUMMERS, A. O.; WIREMAN, J.; VIMY, M. J.; LORSCHIEDER, F. L.; MARSHALL, B.; LEVY, S. B.; BENNETT, S.; BILLARD, L. Mercury released from dental “silver” fillings provokes an increase in mercury- and antibiotic-resistant bacteria in oral and intestinal floras of primates. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 37, n. 4, p. 825-834, 1993.

TAMTA, S.; OR, V. K.; PRUTHVISHREE, B. S.; KARTHIKEYAN, R.; RUPNER, R. N.; CHETHAN, G. E.; DUBAL, Z. B.; SINHA, D. K.; SINGH, B. R. Faecal carriage of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and New Delhi metallo beta-lactamase (NDM) producing *Escherichia coli* between piglets and pig farmworkers. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 73, p. 101564, 2020.

TAN, X.; KIM, H. S.; BAUGH, K.; HUANG, Y.; KADIYALA, N.; WENCES, M.; SINGH, N.; WENZLER, E.; BULMAN, Z. P. Therapeutic Options for Metallo - Lactamase-Producing Enterobacterales. **Infection and Drug Resistance**, v. 14, p. 125-142, 2021.

TAREKEGN, M M.; SALILIH, F Z.; ISHETU, A I. Microbes used as a tool for bioremediation of heavy metal from the environment. **Cogent Food & Agriculture**, v. 6, n. 1, p. 1783174, 2020.

TELLEN, V. A.; YERIMA, B. P. K. Effects of land use change on soil physicochemical properties in selected areas in the North West region of Cameroon. **Environmental systems research**, v. 7, n. 1, p. 1-29, 2018.

TIAN, Q.; TANIGUCHI, T.; SHI, W. Y.; LI, G.; YAMANAKA, N.; DU, S. Land-use types and soil chemical properties influence soil microbial communities in the semiarid Loess Plateau region in China. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 45289, 2017.

TIAN, M.; HE, X.; FENG, Y.; WANG, W.; CHEN, H.; GONG, M.; LIU, D.; CLARKE, J. L.; VAN EERDE, A. Pollution by antibiotics and antimicrobial resistance in livestock and poultry manure in China, and countermeasures. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 539, 2021.

TISEO, K.; HUBER, L.; GILBERT, M.; ROBINSON, T. P.; VAN BOECKEL, T. P. Global trends in antimicrobial use in food animals from 2017 to 2030. **Antibiotics**, v. 9, n. 12, p. 918, 2020.

USEPA. United States Environment Protection Agency. **Guidelines for water reuse** (2012). Available from: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-08/documents/2012-guidelines-water-reuse.pdf>. Acesso em: 18 mai. 2024.

USEPA. United States Environment Protection Agency. **Method 3051: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils** (2007). Disponível em: <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf>. Acesso em: 08 jun. 2023.

VAN ELSAS, J. D.; PEREIRA, T. P. R. R. Occurrence of antibiotic resistance among bacilli in Brazilian soils and the possible involvement of resistance plasmids. **Plant and soil**, v. 94, p. 213-226, 1986.

VAN, E. A.; BLANEY, L. Antibiotic residues in animal waste: occurrence and degradation in conventional agricultural waste management practices. **Current Pollution Reports**, v. 2, p. 135-155, 2016.

VÁZQUEZ-BOLAND, J. A.; MEIJER, W. G. The pathogenic actinobacterium *Rhodococcus equi*: what's in a name?. **Molecular microbiology**, v. 112, n. 1, p. 1-15, 2019.

VELDMAN, K.; KANT, A.; DIERIKX, C.; VAN, E. Z. A.; WIT, B.; MEVIUS, D. Enterobacteriaceae resistant to third-generation cephalosporins and quinolones in fresh culinary herbs imported from Southeast Asia. **International journal of food microbiology**, v. 177, p. 72-77, 2014.

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **Pharmacy and therapeutics**, v. 40, n. 4, p. 277-283, 2015.

VENTURA, M.; CANCHAYA, C.; TAUCH, A.; CHANDRA, G.; FIDZGERALD, G. F.; CHATER, K. F.; SINDEREN, D. Genomics of actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 71, n. 3, p. 495-548, 2007.

VIANA, A. T.; CAETANO, T.; COVAS, C.; SANTOS, T.; MENDO, S. Environmental superbugs: the case study of *Pedobacter* spp. **Environmental Pollution**, v. 241, p. 1048-1055, 2018.

VIEIRA, P. N.; VIEIRA, S. L. V. Uso irracional e resistência a antimicrobianos em hospitais. **Arq. Cienc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 21, n. 3, p. 209-212, 2017.

VIRTUOSO, M. C. S.; OLIVEIRA, D. G.; DIAS, L. N. S.; FAGUNDES, P. S. F.; LEITE, P. R. S. C. Reutilização da cama de frango. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 12, n. 2, p. 3964-3979, 2015.

VITAL, P. G.; ZARA, E. S.; PARAOAN, C. E. M.; DIMASUPIL, M. A. Z.; ABELLO, J. J. M.; SANTOS, I. T. G.; RIVERA, W. L. Antibiotic resistance and extended-spectrum beta-lactamase production of *Escherichia coli* isolated from irrigation waters in selected urban farms in Metro Manila, Philippines. **Water**, v. 10, n. 5, p. 548, 2018.

VOLK, L. B. S.; COGO, N. P.; STRECK, E. V. Erosão hídrica influenciada por condições físicas de superfície e subsuperfície do solo resultantes do seu manejo na ausência de cobertura vegetal. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 763-774, 2004.

WAITES, M. J.; MORGAN, N. L.; ROCKEY, J. S.; HIGTON, G. **Industrial microbiology: an introduction**. John Wiley & Sons, 2009.

WANG, F. F.; LIU, G.; ZHANG, F.; LI, Z. M.; YANG, X. L.; YANG, C. D.; SHEN, J. L.; HE, J. Z.; LI, B. L.; ZENG, J. G. Natural selenium stress influences the changes of antibiotic resistance in seleniferous forest soils. **Environmental Microbiome**, v. 17, n. 1, p. 26, 2022.

WAP. World Animal Protection. **Custo global de saúde pública da resistência antimicrobiana na pecuária industrial intensiva** (2023). Disponível em: [https://www.worldanimalprotection.org.br/mais-recente/noticias/maioria-dos-antibioticos-usados-em-sistemas-intensivos-nao-tem-fins-terapeuticos/#:~:text=O%20levantamento%20revelou%20ainda%20que,toneladas\)%20foram%20utilizadas%20nessas%20fazendas](https://www.worldanimalprotection.org.br/mais-recente/noticias/maioria-dos-antibioticos-usados-em-sistemas-intensivos-nao-tem-fins-terapeuticos/#:~:text=O%20levantamento%20revelou%20ainda%20que,toneladas)%20foram%20utilizadas%20nessas%20fazendas). Acesso em: 20 jun. 2024.

WEGENER, H. C. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. **Current Opinion Microbiology**, v. 6, p. 439-445, 2003.

WEINDORF, D. C.; MUIR, J. P.; LANDERO-SÁNCHEZ, C. Organic compost and manufactured fertilizers: economics and ecology. In: CAMPBELL, W. B.; ORTÍZ, S. L. **Integrating agriculture, conservation and ecotourism**. Dordrecht: Springer, 2011. p. 27-53.

WELLINGTON, E. M.; BOXALL, A. B.; CROSS, P.; FEIL, E. J.; GAZE, W. H.; HAWKEY, P. M.; ROLLINGS, A. S. J.; JONES, D. L.; LEE, N. M.; OTTEN, W.; THOMAS, C. M. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. **The Lancet infectious diseases**, v. 13, n. 2, p. 155-165, 2013.

WHO. World Health Organization. **OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente** (2017). Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5357:oms-publica-lista-de-bacterias-para-as-quais-se-necessitam-novos-antibioticos-urgentemente&Itemid=812. Acesso em 01 fev. 2024.

WHO. World Health Organization. **Critically important antimicrobials for human medicine** (2019). Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515528?msclkid=0704f69cd0d611ec94e186731309b54d>. Acesso em: 01 fev. 2024.

WHO. World Health Organization. **Global Action Plan on Antimicrobial Resistance** (2015). Disponível em: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/globalaction-plan/en/>. Acesso em: 05 fev. 2021.

WHO. World Health Organization. **WHO Model list of essential medicines** (2017). Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/273826>. Acesso em: 06 fev. 2024.

WHO. World Health Organization. **Plano de Ação Nacional de Luta Contra a Resistência aos Antimicrobianos de Cabo Verde 2018–2022** (2018). Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/anaemia/cabo-verde-nap-2018-2022.pdf?download=true&sfvrsn=7e99d77a_1. Acesso em: 16 out. 2024.

WIEGAND, I.; HILPERT, K.; HANCOCK, R. E. W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. **Nature Protocols**, v. 3, n. 2, p. 163-175, 2008.

WILAMOWSKI, M.; SHERRELL, D. A.; KIM, Y.; LAVENS, A.; HENNING, R.W.; LAZARSKI, K.; SHIGEMOTO, A.; ENDRES, M.; MALTSEVA, N.; BABNIGG, G.; BURDETTE, S. C. Time-resolved β -lactam cleavage by L1 metallo- β -lactamase. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, p. 7379, 2022.

WILLMS, I. M.; BOLZ, S. H.; YUAN, J.; KRAFFT, L.; SCHNEIDER, D.; SCHÖNING, I.; SCHRUMPF, M.; NACKE, H. The ubiquitous soil verrucomicrobial clade ‘Candidatus Udaeobacter’ shows preferences for acidic pH. **Environmental Microbiology Reports**, v. 13, n. 6, p. 878-883, 2021.

WILLMS, I. M.; KAMRAN, A.; ABMANN, N. F.; KRONE, D.; BOLZ, S. H.; FIEDLER, F.; NACKE, H. Discovery of novel antibiotic resistance determinants in forest and grassland soil metagenomes. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 460, 2019.

WOAH. World Organization for Animal Health. **List of Antimicrobial Agents of Veterinary Importance** (2021). Disponível em: <https://www.oie.int/app/uploads/2021/06/a-oie-listantimicrobials-june2021.pdf>. Acesso em 06 fev 2024.

WOAH. World Organization for Animal Health. **One Health** (2020). Disponível em: <https://www.oie.int/en/forthe-media/onehealth/>. Acesso em: 28 jan. 2021.

WOAH. World Organization for Animal Health. **Pecuária industrial intensiva: fábrica de bactérias multirresistentes** (2022). Disponível em: <https://www.worldanimalprotection.org.br/siteassets/documents/sistemas-alimentares/relatorio-pecuariaindustrial-intensiva-fabrica-de-bacterias-multirresistentes.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2024.

WOZNIAK, A.; VILLAGRA, N. A.; UNDABARRENA, A.; GALLARDO, N.; KELLER, N.; MORAGA, M.; RAMON, J. C.; MORA, G. C.; GARCÍA, P. Porin alterations present in non-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae with high and intermediate levels of carbapenem resistance in Chile. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, n. 9, p. 1270–1279, 2012.

WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. **Nature reviews microbiology**, v. 5, n. 3, p. 175-186, 2007.

WU, B.; LIU, F.; FANG, W.; YANG, T.; CHEN, G. H.; HE, Z.; WANG, S. Microbial sulfur metabolism and environmental implications. **Science of The Total Environment**, v. 778, p. 146085, 2021.

XIE, W. Y.; SHEN, Q.; ZHAO, F. J. Antibiotics and antibiotic resistance from animal manures to soil: a review. **European journal of soil science**, v. 69, n. 1, p. 181-195, 2018.

XIE, W. Y.; YUAN, Y.; WANG, Y. T.; LIU, D. Y.; SHEN, Q.; ZHAO, F. J. Hazard reduction and persistence of risk of antibiotic resistance during thermophilic composting of animal waste. **Journal of Environmental Management**, v. 330, p. 117249, 2023.

YAZDANKHAH, S.; SKJERVE, E.; WASTESON, Y. Antimicrobial resistance due to the content of potentially toxic metals in soil and fertilizing products. **Microbial ecology in health and disease**, v. 29, n. 1, p. 1548248, 2018.

ZHANG, A. N.; GASTON, J. M.; DAI, C. L.; ZHAO, S.; POYET, M.; GROUSSIN, M.; YIN, X.; LI, L. G.; LOOSDRECHT, M. C. M. V.; TOPP, E.; GILLINGS, M. R.; HANAGE, W. P.; TIEDJE, J. M.; MONIZ, K.; ALM, E. J.; ZHANG, T. An omics-based framework for assessing the health risk of antimicrobial resistance genes. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 4765, 2021.

ZHANG, F. S.; LI, Y. X.; YANG, M.; LI, W. Content of heavy metals in animal feeds and manures from farms of different scales in northeast China. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 9, n. 8, p. 2658–2668, 2012.

9. APÊNDICE

Apêndice A: Material complementar referente ao artigo do capítulo I – Resistência a antimicrobianos em sistemas agrícolas no Brasil – uma preocupação sob a perspectiva de Saúde Única

Tabela S1. Dados referentes aos artigos encontrados sobre resistência a antimicrobianos em sistemas agrícolas no Brasil

N	Título
1	Analysis of Tylosin in poultry litter by HPLC-UV and HPLC-MS/MS after LTPE
2	Antibiotic Resistance and virulence factors among <i>Escherichia coli</i> isolates from avian organic fertilizer
3	Antimicrobial resistance of Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> isolated from sheep.
4	Bacteria and antimicrobial resistance profile during the composting process of wastes from animal production
5	Characterization of non-O157 Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> (STEC) obtained from feces of sheep in Brazil
6	Detection of ESBL/AmpC-Producing and Fosfomycin-Resistant <i>Escherichia coli</i> From Different Sources in Poultry Production in Southern Brazil
7	Dynamics of antibiotic resistance genes and presence of putative pathogens during ambient temperature anaerobic digestion
8	Caracterização epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de <i>Escherichia coli</i> isoladas de criatórios suínos do sul do Brasil
9	Fate of non O157 Shigatoxigenic <i>Escherichia coli</i> in ovine manure composting
10	Fecal cultivable aerobic microbiota of dairy cow sand calves acting as reservoir of clinically relevant antimicrobial resistance genes
11	Fluoroquinolones and trace elements in poultry litter: estimation of environmental load based on nitrogen requirement for crops
12	Investigation of antimicrobial resistance genes in organic fertilizers from animal residues
13	Molecular characterization of multidrug-resistant Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> harboring antimicrobial resistance genes obtained from a farmhouse
14	Molecular typing of antimicrobial-resistant Shiga-toxin-producing <i>Escherichia coli</i> strains (STEC) in Brazil
15	Occurrence and antimicrobial resistance of <i>Salmonella</i> serotypes isolated recovered from poultry of Western Paraná, Brazil
16	Occurrence and sorption of Fluoroquinolones in poultry litter sand soils from São Paulo State, Brazil
17	Occurrence of methicillin-resistant <i>Staphylococcus</i> spp. on brazilian dairy farms that produce unpasteurized cheese
18	Prevalence and persistence of potentially pathogenic and antibiotic resistant bacteria during anaerobic digestion treatment cattle manure
19	Shedding patterns of antimicrobial-resistant <i>Escherichia coli</i> strains in a cohort of calves and their damson a Brazilian dairy farm
20	Viability of Enterobacteria in swine manure storage units
21	Detection of β -lactamase encoding genes in feces, soil and water from a Brazilian pig farm
22	<i>Escherichia coli</i> used as a biomarker of antimicrobial resistance in pig farms in Southern Brazil
23	Amazon deforestation enriches antibiotic resistance genes
24	Antibiotics and microbial resistance in Brazilian soil sunder manure application
25	Draft genome sequence of a multidrug-resistant <i>Escherichia coli</i> ST189 carrying several acquired antimicrobial resistance genes obtained from Brazilian soil
26	Draft genome sequence of a multidrug-resistant tetA/IncF-harboring <i>Escherichia coli</i> ST906 obtained from a soil cultivated with jaboticaba (<i>Plinia cauliflora</i>)
27	Characterization of acquired antimicrobial resistance genes in environmental <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> isolates from Brazil
28	Genotypic diversity and presence of β -lactamase encoding genes in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolated from Brazilian soils

29	Heavy metal resistance genes and plasmid-mediated quinolone resistance genes in <i>Arthrobacter</i> sp. isolated from Brazilian soils				
30	High level of resistance to aztreonam and ticarcillin in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolated from soil of different crops in Brazil				
31	Metagenomic insights for antimicrobial resistance surveillance in soils with different land uses in Brazil				
32	Multiple Sequence Types, virulence determinants and antimicrobial resistance genes in multidrug- and colistin-resistant <i>Escherichia coli</i> from agricultural land non-agricultural soils				
33	Occurrence of antibiotic resistance among bacilli in Brazilian soil sand possible involvement of resistance plasmids				
34	Occurrence of the colistin resistance mcr-1 gene in soils from intensive vegetable production native vegetation				
35	Sulfonamide Resistance genes in soils treated with waste from animal production in organic production system				
36	Irrigation Ponds as Sources of Antimicrobial-Resistant Bacteria in Agricultural Areas with Intensive Use of Poultry Litter				
N	Revista	Ano de publicação	Ambiente agropecuário	Especificação	Localização do estudo
1	International Journal of Environmental Analytical Chemistry	2021	Resíduo animal	Frango	MG
2	Ciência Rural	2020	Resíduo animal	Frango	SP
3	Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science	2022	Resíduo animal	Ovino	GO
4	Brazilian Journal of Microbiology	2023	Resíduo animal	Equino e Frango	RJ
5	World Journal of Microbiology and Biotechnology	2019	Resíduo animal	Ovino	SP
6	Frontiers in Microbiology	2021	Resíduo animal	Frango	PR e RS
7	Journal of Applied Microbiology	2014	Resíduo animal	Bovino	MG
8	Pesquisa Veterinária Brasileira	2006	Resíduo animal	Suíno	SC
9	Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia	2014	Resíduo animal	Ovino	SP
10	Brazilian Journal of Microbiology	2020	Resíduo animal	Bovino	SP
11	Journal of Environmental Science and Health	2020	Resíduo animal	Frango	RJ
12	Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável	2022	Resíduo animal	Bovino e Frango	RJ
13	Pathogens and Global Health	2019	Resíduo animal	Ovino	SP
14	Research in Microbiology	2011	Resíduo animal	Bovino	SP
15	African Journal of Agricultural Research	2014	Resíduo animal	Frango	PR
16	Science of The Total Environment	2012	Resíduo animal	Frango	SP
17	Toxins	2020	Resíduo animal	Bovino	SP
18	Bioresource Technology	2014	Resíduo animal	Bovino	MG
19	Ars Veterinaria	2009	Resíduo animal	Bovino	SP
20	Pesquisa Agropecuária Brasileira	2022	Resíduo animal	Suíno	SC
21	Environmental Monitoring and Assessment	2018	Resíduo animal/Solo	Suíno e agricultura	SP
22	Science of The Total Environment	2019	Resíduo animal/Solo	Suíno e agricultura	SC
23	Soil Biology and Biochemistry	2021	Solo	Agricultura e floresta	MG e PA
24	Land Degradation & Development	2018	Solo	Agricultura e floresta	RS
25	Journal of Global Antimicrobial Resistance	2019	Solo	Agricultura	SP
26	Journal of global antimicrobial resistance	2019	Solo	Agricultura	SP
27	Microbial Drug Resistance	2019	Solo	Agricultura	PR, PI, RS e SP

28	Applied soil ecology	2018	Solo	Agricultura	*
29	Antonie Van Leeuwenhoek	2019	Solo	Agricultura	AM, DF, GO, MG e RR
30	Science of the total environment	2014	Solo	Agricultura	*
31	Antibiotics	2023	Solo	Agricultura e floresta	SP
32	Environmental Pollution	2021	Solo	Agricultura e floresta	SP e MG
33	Plant and soil	1986	Solo	Agricultura e floresta	RJ
34	European journal of soil science	2019	Solo	Agricultura e floresta	RJ
35	Semina: Ciências Agrárias	2021	Solo	Agricultura e floresta	RJ
36	Antibiotics	2022	Água	Lagoas de irrigação	RJ
N Resistência fenotípica avaliada					
1	Macrolídeo (tilosina)				
2	Aminoglicosídeo (gentamicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, cefazolina, cefotaxima, cefoxitina, ceftazidima); Nitrofuranos (nitrofurantoina); Quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, norfloxacina); Sulfonamida (sulfametaxazol-trimetropim); Tetraciclina (tetraciclina)				
3	Betalactâmicos (amoxicilina, ampicilina, cefaclor, cefalotina, cefepime, cefotaxima, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, meropenem)				
4	Equino e Frango: Aminoglicosídeos (gentamicina); Betalactâmicos (amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, aztreonam, cefepime, cefoxitina, ceftazidima, imipenem, piperacilina-tazobactam); Quinolona (ciprofloxacina); Sulfonamidas (sulfametoxazol-trimetropim).				
5	Aminoglicosídeos (amicacina, estreptomicina, gentamicina, tobramicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (amoxicilina-clavulanato, ampicilina, ampicilina-sulbactam, aztreonam, cefaclor, cefazolina, cefepima, cefotaxima, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima, ertapenem, imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam, ticarcilina-clavulanato); Diaminopirimidínicos (trimetoprim); Nitrofurano (nitrofurantoina); Quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina); Sulfonamidas (sulfonamida, sulfametoxazol-trimetropim); Tetraciclina (doxiciclina, minociclina, tetraciclina)				
6	Aminoglicosídeos (gentamicina); Betalactâmicos (amoxicilina-ácido clavulânico, aztreonam, cefepime, cefotaxima, cefoxitina, ceftazidima, imipenem); Fenicóis (cloranfenicol); Fosfomicinas (fosfomicina-trometamol); Nitrofuranos (nitrofurantoina); Quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina); Sulfonamidas (sulfametoxazol-trimetoprima); Tetraciclina (tetraciclina);				
7	NA				
8	Aminoglicosídeos (amicacina, neomicina, gentamicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (ampicilina, cefalexina); Diaminopirimidínicos (trimetoprim); Não esteróide (fluorfenicol); Poli-peptídeo (colistina); Quinolona (enrofloxacina, norfloxacina); Sulfonamida (sulfametoxazol-trimetoprim); Tetraciclina (tetraciclina)				
9	Aminocumarina (novobiocina); Aminoglicosídeos (estreptomicina, neomicina); Betalactâmicos (ampicilina, penicilina); Diaminopirimidínicos (trimetoprim); Lincosamidas (lincomicina); Macrolídeos (eritromicina); Quinolona (ácido nalidíxico); Tetraciclina (tetraciclina)				
10	NA				
11	Quinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina)				
12	NA				
13	Aminoglicosídeos (amicacina, estreptomicina, gentamicina, tobramicina); Betalactâmicos (amoxicilina-clavulanato, ampicilina, ampicilina-sulbactam, aztreonam, cefaclor, cefazolina, cefepima, cefotaxima, cefoxitina, cefuroxima, ceftazidima, ceftriaxona, ertapenem, imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam); Fenicóis (cloranfenicol); Nitrofuranos (nitrofurantoina); Quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina); Sulfonamidas (trimetoprim-sulfametoxazol); Tetraciclina (doxiciclina, minociclina, tetraciclina)				

- 14 **Aminoglicosídeos** (canamicina, estreptomicina, gentamicina); **Anfenicois** (cloranfenicol); **Betalactâmicos** (ampicilina, cefepime, ceftazidima, cefotaxima); **Quinolona** (ácido nalidíxico, ciprofloxacina); **Sulfonamida** (sulfametoxazol-trimetoprim); **Tetraciclina** (tetraciclina);
- 15 **Aminoglicosídeo** (gentamicina, estreptomicina, tobramicina); **Anfenicois** (cloranfenicol); **Betalactâmicos** (ampicilina, cefalotina, imipenem); **Quinolona** (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina); **Sulfonamida** (sulfametaxazol-trimetoprim); **Tetraciclina** (tetraciclina)
- 16 **Quinolonas** (ciprofloxacina, danofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina)
- 17 **Aminoglicosídeos** (gentamicina); **Anfenicois** (cloranfenicol); **Betalactâmicos** (cefepime, penicilina G, oxacilina); **Glicopeptídeos** (vancomicina); **Lincosamidas** (clindamicina); **Macrocíclico** (rifampicina); **Macrolídeos** (eritromicina); **Quinolona** (ciprofloxacina); **Sulfonamida** (sulfametaxazol-trimetoprim); **Tetraciclina** (tetraciclina)
- 18 **Aminoglicosídeos** (amicacina, gentamicina); **Anfenicois** (cloranfenicol); **Betalactâmicos** (ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefepime, meropenem, oxacilina, penicilina, piperacilina-tazobactam); **Glicopeptídeos** (vancomicina); **Macrocíclico** (rifampicina); **Macrolídeos** (eritromicina); **Quinolona** (levofloxacina); **Sulfonamida** (sulfametoxazol-trimetoprim)
- 19 **Aminoglicosídeos** (amicacina, estreptomicina, gentamicina); **Betalactâmicos** (amoxicilina, ampicilina, cefalotina, ceftriaxone); **Quinolona** (ácido nalidíxico, ciprofloxacina); **Sulfonamidas** (cotrimoxazole); **Tetraciclina** (tetraciclina)
- 20 **Aminoglicosídeos** (estreptomicina, gentamicina); **Anfenicois** (cloranfenicol); **Betalactâmicos** (amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, cefalexina, cefalotina, penicilina G); **Macrolídeos** (eritromicina); **Quinolona** (ciprofloxacina, norfloxacina); **Sulfonamida** (sulfametaxazol-trimetoprim); **Tetraciclina** (tetraciclina)
-
- 21 NA
- 22 **Suíno e Agricultura:** **Aminoglicosídeos** (gentamicina); **Betalactâmicos** (amoxicilina-ácido clavulânico, ceftiofur); **Polipeptídeo** (colistina); **Quinolonas** (enrofloxacina); **Sulfonamidas** (sulfametaxazol-trimetoprim)
-
- 23 NA
- 24 NA
- 25 **Aminoglicosídeos** (estreptomicina, gentamicina, tobramicina); **Anfenicois** (cloranfenicol); **Betalactâmicos** (ampicilina, aztreonam, cefaclor, cefazolina, cefepima, cefotaxima, ceftaxidima, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima), **Diaminopirimidínicos** (trimetoprim); **Quinolona** (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina); **Sulfonamida** (sulfametoxazol-trimetoprim); **Tetraciclina** (doxiciclina, tetraciclina)
- 26 **Aminoglicosídeos** (estreptomicina); **Betalactâmicos** (ampicilina, cefaclor, cefazolina); **Diaminopirimidínicos** (trimetoprim); **Quinolonas** (ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina, ofloxacina, lomefloxacina, ácido nalidíxico); **Tetraciclina** (tetraciclina, doxiciclina)
- 27 **Betalactâmicos** (ceftazidima); **Quinolonas** (levofloxacina); **Sulfonamidas** (sulfametaxazol-trimetoprim); **Tetraciclina** (minociclina)
- 28 **Betalactâmicos** (aztreonam, ticarcilina) + 16 antimicrobianos*
- 29 **Quinolona** (ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina)
- 30 **Aminoglicosídeos** (amicacina, tobramicina); **Betalactâmicos** (aztreonam, cefepime, ceftazidima, imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam, ticarcilina-ácido clavulânico); **Polipeptídeo** (colistina); **Quinolona** (ciprofloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina); **Sulfonamidas** (sulfametoxazol-trimetoprim); **Tetraciclina** (tetraciclina)
- 31 NA
- 32 **#Aminoglicosídeos** (amicacina, estreptomicina, gentamicina, tobramicina); **Anfenicois** (cloranfenicol); **Betalactâmicos** (amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, ampicilina-sulbactam, aztreonam, cefaclor, cefazolina, cefepime, cefotaxima, ceftaxidima, ceftriaxona, cefuroxima, imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam); **Diaminopirimidínicos** (trimetoprim); **Macrolídeos** (fosfomicina); **Nitrofuranos** (nitrofurantoina); **Polipeptídeo** (colistina); **Quinolona** (ciprofloxacina, norfloxacina, levofloxacina, ofloxacina, lomefloxacina, ácido nalidíxico); **Sulfonamidas** (sulfonamida, sulfametaxazol-trimetoprim); **Tetraciclina** (doxiciclina, tetraciclina, minociclina)

33	Agricultura e Floresta: Aminoglicosídeos (estreptomicina, canamicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (penicilina); Macrolídeos (eritromicina); Tetraciclina (tetraciclina)
34	NA
35	NA
36	NA
N	Resistência fenotípica detectada
1	Macrolídeo (tilosina)
2	TODOS OS TESTADOS. Aminoglicosídeo (gentamicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, cefazolina, cefotaxima, cefoxitina, ceftazidima); Nitrofuranos (nitrofurantoina); Quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, norfloxacina); Sulfonamida (sulfametaxazol-trimetoprim); Tetraciclina (tetraciclina)
3	Betalactâmicos (amoxicilina, ampicilina, cefaclor, cefalotina, cefepime, cefotaxima, ceftriaxona)
4	Frango: Aminoglicosídeos (gentamicina); Betalactâmicos (amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, aztreonam, cefepime, cefoxitina, ceftazidima, imipenem), Quinolona (ciprofloxacina), Sulfonamida (sulfametaxazol-trimetoprim) / Equino: Betalactâmicos (amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, aztreonam, cefepime, cefoxitina, ceftazidima, imipenem), Quinolona (ciprofloxacina), Sulfonamida (sulfametaxazol-trimetoprim)
5	Aminoglicosídeos (amicacina, estreptomicina, gentamicina, tobramicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (ampicilina, cefaclor, cefazolina, cefoxitina, cefuroxima); Diaminopirimidínicos (trimetoprim); Quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina); Sulfonamidas (sulfametaxazol-trimetoprima, sulfonamida); Tetraciclina (doxiciclina, tetraciclina)
6	TODOS OS TESTADOS, EXCETO IMIPENEM. Aminoglicosídeos (gentamicina); Betalactâmicos (amoxicilina-ácido clavulânico, aztreonam, cefepime, cefotaxima, cefoxitina, ceftazidima); Fenicóis (cloranfenicol); Fosfomicinas (fosfomicina-trometamol); Nitrofuranos (nitrofurantoina); Quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina); Sulfonamidas (sulfametoxazol-trimetoprima); Tetraciclina (tetraciclina);
7	NA
8	TODOS OS TESTADOS. Aminoglicosídeos (amicacina, neomicina, gentamicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (ampicilina, cefalexina); Diaminopirimidínicos (trimetoprim); Não esteróide (fluorfenicol); Poli-peptídico (colistina); Quinolona (enrofloxacina, norfloxacina); Sulfonamida (sulfametoxazol-trimetoprim); Tetraciclina (tetraciclina)
9	TODOS OS TESTADOS. Aminocumarina (novobiocina); Aminoglicosídeos (estreptomicina, neomicina); Betalactâmicos (ampicilina, penicilina); Diaminopirimidínicos (trimetoprim); Lincosamidas (lincomicina); Macrolídeos (eritromicina); Quinolona (ácido nalidíxico); Tetraciclina (tetraciclina)
10	NA
11	Quinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina)
12	NA
13	Aminoglicosídeos (estreptomicina, gentamicina, tobramicina); Betalactâmicos (ampicilina, ampicilina-sulbactam, cefaclor, cefazolina, cefuroxima); Fenicóis (cloranfenicol); Quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina); Sulfonamidas (sulfametaxazol-trimetoprim); Tetraciclina (doxiciclina, tetraciclina);
14	Aminoglicosídeos (canamicina, estreptomicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (ampicilina); Sulfonamida (sulfametaxazol-trimetoprim); Tetraciclina (tetraciclina)
15	Aminoglicosídeo (estreptomicina, gentamicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (ampicilina, cefalotina, imipenem); Quinolona (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina); Sulfonamida (sulfametaxazol-trimetoprim); Tetraciclina (tetraciclina)
16	Quinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina)

17	Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (cefepima, oxacilina, penicilina G); Macrolídeos (eritromicina); Quinolona (ciprofloxacina); Sulfonamida (sulfametaxazol-trimetoprim)
18	Aminoglicosídeos (gentamicina, ampicilina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (ampicilina, ampicillin-sulbactam, cefepime, meropenem, oxacilina, penicilina, piperacilina-tazobactam); Macrolídeo (eritromicina), Macrocíclico (rifampicina); Quinolona (levofloxacina); Sulfonamida (sulfametaxazol-trimetoprim)
19	TODOS OS TESTADOS. Aminoglicosídeos (amicacina, estreptomicina, gentamicina); Betalactâmicos (amoxicilina, ampicilina, cefalotina, ceftriaxone); Quinolona (ácido nalidíxico, ciprofloxacina); Sulfonamidas (cotrimoxazole); Tetraciclina (tetraciclina)
20	Betalactâmicos (penicilina); Macrolídeos (eritromicina); Tetraciclina (tetraciclina)
21	NA
22	Suíno e Agricultura: Aminoglicosídeos (gentamicina); Betalactâmicos (amoxicilina-ácido clavulânico, ceftiofur); Polipeptídio (colistina); Quinolonas (enrofloxacin); Sulfonamidas (sulfametaxazol-trimetoprim)
23	NA
24	NA
25	TODOS OS AVALIADOS. Aminoglicosídeo (estreptomicina, gentamicina, tobramicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (ampicilina, aztreonam, cefaclor, cefazolina, cefepima, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima), Diaminopirimidínicos (trimetoprim); Quinolona (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina); Sulfonamida (sulfametoxazol-trimetoprim); Tetraciclina (doxiciclina, tetraciclina)
26	TODOS OS AVALIADOS. Aminoglicosídeos (estreptomicina); Betalactâmicos (ampicilina, cefaclor, cefazolina); Diaminopirimidínicos (trimetoprim); Quinolonas (ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina, ofloxacina, lomefloxacina, ácido nalidíxico); Tetraciclina (tetraciclina, doxiciclina)
27	TODOS OS AVALIADOS. Betalactâmicos (ceftazidima); Quinolonas (levofloxacina); Sulfonamidas (sulfametaxazol-trimetoprim); Tetraciclina (minociclina)
28	Betalactâmicos (aztreonam, ticarcilina)
29	TODOS OS AVALIADOS. Quinolona (ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina)
30	Betalactâmicos (aztreonam, meropenem, ticarcilina-ácido clavulânico); Polipeptídio (colistina); Tetraciclina (tetraciclina)
31	NA
32	#Aminoglicosídeos (amicacina, estreptomicina, gentamicina, tobramicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, ampicilina-sulbactam, aztreonam, cefaclor, cefazolina, cefepime, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima); Diaminopirimidínicos (trimetoprim); Fosfomicina (fosfomicina); Nitrofuranos (nitrofurantoina); Polipeptídio (colistina); Quinolona (ciprofloxacina, norfloxacina, levofloxacina, ofloxacina, lomefloxacina, ácido nalidíxico); Sulfonamidas (sulfonamida, sulfametaxazol-trimetoprim); Tetraciclina (doxiciclina, tetraciclina, minociclina)
33	Agricultura e Floresta: TODOS OS AVALIADOS. Aminoglicosídeos (estreptomicina, canamicina); Anfenicois (cloranfenicol); Betalactâmicos (penicilina); Macrolídeos (eritromicina); Tetraciclina (tetraciclina)
34	NA
35	NA
36	NA
N	Resistência genotípica avaliada
1	NA
2	NA
3	Betalactâmicos (blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-M-Gp9, blaCTX-M-Gp8, blaCTX-M-Gp25)
4	NA

- 5 **Aminoglicosídeos** (aac(3')-Ia, aac(3')-IIa, aac(6')-Ib, aac(6')-Ih, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia, aph(3')-VI); **Betalactâmicos** (blaCMY, blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-M-Gp8, blaCTX-M-Gp9, blaOXA-1-like, blaSHV); **Quinolona** (oqxA, oqxB, qepA, qnrA, qnrB, qnrS); **Sulfonamidas** (sul1, sul2, sul3); **Tetraciclínas** (tetA, tetB, tetC, tetD, tetE, tetG, tetJ, tetL, tetM, tetO, tetP, tetQ, tetS, tetX)
- 6 **Betalactâmicos** (blaACC, blaCIT, blaDHA, blaEBC, blaFOX, blaMOX, blaCTX-M-1, blaCTX-M-2, blaCTX-M-8, blaCTX-M-9, blaCTX-M-25); **Polipeptídio** (mcr-1); **Fosfomicina** (fosA3)
- 7 **Aminoglicosídeos** (aphA2); **Betalactâmicos** (blaTEM-1); **Macrólidos** (ermB)
- 8 NA
- 9 NA
- 10 **Aminoglicosídeos** (aac(3')-Ia, aac(3')-IIa, aac(6')-Ib, aac(6')-Ih, aadA, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia, aph(3')-VI); **Betalactâmicos** (blaCMY, blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-M-Gp8, blaCTX-M-Gp9, blaGES, blaGIM, blaIMP, blaKPC, blaNDM, blaOXA-1-like, blaOXA-48-like, blaOXA-1-like, blaPER, blaSHV, blaSPM, blaSIM, blaVEB, blaVIM); **Fenicóis** (cmlA, floR); **Glicopéptidos** (vanA, vanB, vanC1, vanC2/3); **Macrólidos** (ermA, ermB, ermC, mefAE); **Polipeptídio** (mcr1, mcr2, mcr3, mcr4, mcr5); **Quinolonas** (oqxA, oqxB, qepA, qnrA, qnrB, qnrS); **Sulfonamidas** (sul1, sul2, sul3); **Tetraciclínas** (tetA, tetB, tetC, tetD, tetE, tetG, tetM)
- 11 NA
- 12 **Bovino e Frango:** **Betalactâmicos** (blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-51, blaOXA-58); **Polipeptídio** (mcr1, mcr3), **Quinolona** (qnrA, qnrB, qnrS); **Sulfonamidas** (sul1, sul2); **Tetraciclina** (tetA, tetB)
- 13 **Aminoglicosídeos** (aac(3')-Ia, aac(3')-IIa, aac(6')-Ib, aac(6')-Ih, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia, aph(3')-VI); **Betalactâmicos** (blaCMY, blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-M-Gp8, blaCTX-M-Gp9, blaOXA-1-like, blaPER, blaSHV, blaVEB); **Fenicóis** (cmlA, floR); **Quinolonas** (oqxB, qepA, qnrA, qnrB, qnrS); **Sulfonamidas** (sul1, sul2, sul3); **Tetraciclínas** (tetA, tetB, tetC, tetD, tetE, tetG, tetJ, tetL, tetM, tetO, tetP, tetQ, tetS, tetX)
- 14 **Betalactâmicos** (blaTEM)
- 15 NA
- 16 NA
- 17 **Betalactâmicos** (mecA)
- 18 NA
- 19 NA
- 20 NA
-
- 21 **Suíno e Agricultura:** **Betalactâmicos** (blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-M-Gp8, blaCTX-M-Gp9, blaVEB, blaPER, blaSHV, blaOXA-1-like, blaOXA-48-like, blaOXA-58, blaKPC, blaGES, blaVIM, blaIPM, blaSPM, blaSIM, blaGIM, blaNDM, blaBEL, blaMOX, blaCMY, blaBKC, blaPME)
- 22 **Suíno e Agricultura:** **Betalactâmicos** (blaCTY-M-Gp2, blaSHV-1, blaTEM-1, blaCTX-M-Gp2, blaOXA-1, blaPSE-1, ampC); **Quinolonas** (qnrA, qnrB, qnrS)
-
- 23 ****Agricultura e Floresta:** **Betalactâmicos** (lactamaseB, transpeptidase); **Glicopeptídeos** (vanR, vanS); **Macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas do grupo B** (ermB, ermB efluxo, ermE); **Quinolona** (Fluor Res DNA topo); **Tetraciclina** (tet ribossomal protect, tetM-tetW-tetO-tetS); **Multiresistência** (RND mfp, HTH AraC, RND efluxo, ACR tran, MexW-MexI, adeR, marR, ABC1, drrA, Whib, macB, MFS1, ABC efluxo, Dala dala lig N, ABC tran)
- 24 **Agricultura e Floresta:** **Macrolídeos** (erm); **Quinolona** (qnrA); **Sulfonamidas** (sul1)
- 25 **Aminoglicosídeos** (aadA1, aadA5, aadA24); **Anfenicóis** (floR); **Betalactâmicos** (blaTEM1); **Diaminopirimidínicos** (dfrA1); **Macrolídeos** (mdfA); **Sulfonamidas** (sul2, sul3); **Tetraciclina** (tetA, tet34)
- 26 **Aminoglicosídeos** (aadA1); **Betalactâmicos** (blaTEM-116); **Diaminopirimidínicos** (dfrA1); **Macrolídeos** (mphA); **Tetraciclina** (tetA, tet34)
- 27 **Betalactâmicos** (blaCMY, blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-M-Gp8, blaCTX-M-Gp9, blaGES, blaGIM, blaIMP, blaKPC, blaOXA-1-like, blaOXA-48-like, blaPER, blaNDM, blaSHV, blaSIM, blaVEB, blaVIM); **Quinolona** (oqxA, oqxB, qepA, qnrA, qnrB, qnrS); **Sulfonamidas** (sul1, sul2, sul3)

28	Betalactâmicos (blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-MGp8, blaCTX-M-Gp9, blaGES, blaKPC, blaOXA-48-like, blaPER, blaSHV, blaVEB)
29	Quinolona (oqxA, oqxB, qepA, qnrA, qnrB, qnrS)
30	NA
31	Agricultura: Betalactâmicos (blaLRA-9, blaBJP-1); Diaminopirimidínicos (dfrB3); Glicopeptídeos (vanRO, vanSO); Macrolídeos (mtrA); Macroclítico (rbpA) / Floresta: Diaminopirimidínicos (dfrB7_1, dfrB3); Glicopeptídeos (vanRO); Macroclítico (rbpA)
32	Agricultura e Floresta: Aminoglicosídeos (aac(3)-Ia, aac(3)-IIa, aph(3'')-Ib, aac(6')-Ib, aac(6')-Ih, aadA, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia, aph(3')-VI, aph(6')-Id); Anfenicóis (catA, cmlA, floR); Betalactâmicos (blaCMY, blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-MGp8, blaCTX-M-Gp9, blaCTX-M-Gp15, blaKPC, blaNDM, blaOXA-1-like, blaOXA-48-like, blaPER, blaSHV, blaTEM, blaVEB); Diaminopirimidínicos (dfrA); Macroclítico (fosA); Polipectídeo (mcr1, mcr2, mcr3, mcr4, mcr5, mcr6, mcr7, mcr8, mcr9); Quinolonas (oqxA, oqxB, qepA, qnrA, qnrB, qnrS); Sulfonamidas (sul1, sul2, sul3); Tetraciclínas (tetA, tetB, tetC, tetD, tetG, tetM, tet34)
33	NA
34	Agricultura e Floresta: Polipectídeo (mcr1)
35	Agricultura e Floresta: Sulfonamidas (sul1, sul2)
36	Betalactâmicos (blaACC, blaACT, blaCIT, blaCTX-M, blaDHA, blaEBC, blaFOX, blaGES, blaMIR, blaMOX, blaSHV, blaTEM); Sulfonamidas (sul1, sul2); Quinolonas (qepA, qnrA, qnrB, qnrC, qnrD, qnrS, qnrVC)
N	Resistência genotípica detectada
1	NA
2	NA
3	Betalactâmicos (blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp9)
4	NA
5	Betalactâmicos (blaCTX-M-Gp9); Quinolona (oqxA, oqxB, qnrB, qnrS); Sulfonamidas (sul1, sul2); Tetraciclínas (tetA, tetB, tetC)
6	Betalactâmicos (blaCIT, blaCTX-M-1, blaCTX-M-2, blaCTX-M-8); Polipectídeo (mcr-1); Fosfomicina (fosA3)
7	TODOS OS AVALIADOS. Aminoglicosídeos (aphA2); Betalactâmicos (blaTEM-1); Macrólidos (ermB)
8	NA
9	NA
10	Aminoglicosídeos (aac(3')-Ia, aadA, aph(3')-Ia); Betalactâmicos (blaCMY, blaCTX-M-Gp2, blaSHV); Fenicóis (cmlA, floR); Glicopéptidos (vanA, vanC1, vanC2/3); Macrólidos (ermB, mefAE); Quinolonas (oqxA, oqxB, qepA, qnrB, qnrS); Sulfonamidas (sul1, sul2, sul3); Tetraciclínas (tetA, tetB, tetC)
11	NA
12	Bovino: Quinolona (qnrA, qnrS); Sulfonamidas (sul1, sul2) / Frango: Quinolona (qnrA, qnrB, qnrS); Sulfonamidas (sul1, sul2); Tetraciclina (tetB)
13	Aminoglicosídeos (aac(6')-Ib); Betalactâmicos (blaCMY, blaCTX-M-Gp9, blaSHV); Fenicóis (cmlA); Quinolonas (oqxB, qnrS); Sulfonamidas (sul1, sul2); Tetraciclínas (tetA, tetB, tetC)
14	Betalactâmicos (blaTEM)
15	NA
16	NA
17	Betalactâmicos (mecA)
18	NA
19	NA
20	NA

21	Suíno e Agricultura: Betalactâmicos (blaCTX-M-Gp1, blaGES, blaOXA-1-like, blaSHV, blaVEB)
22	Suíno: Betalactâmicos (ampC, blaCTY-M-Gp2, blaTEM-1); Quinolonas (qnrS)
23	**Agricultura e Floresta: Betalactâmicos (lactamaseB, transpeptidase); Glicopeptídeos (vanR, vanS); Macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas do grupo B (ermB, ermB efluxo, ermE); Quinolona (Fluor Res DNA topo); Tetraciclina (tet ribossomal protect, tetM-tetW-tetO-tetS); Multiresistência (RND mfp, HTH AraC, RND efluxo, ACR tran, MexW-MexI, adeR, marR, ABC1, drrA, Whib, macB, MFS1, ABC efluxo, Dala dala lig N, ABC tran).
24	Agricultura e Floresta: TODOS OS AVALIADOS. Macrolídeos (erm); Quinolona (qnrA); Sulfonamidas (sul1)
25	TODOS OS AVALIADOS. Aminoglicosídeos (aadA1, aadA5, aadA24); Anfenicóis (floR); Betalactâmicos (blaTEM1); Diaminopirimidínicos (dfrA1); Macrolídeos (mdfA); Sulfonamidas (sul2, sul3); Tetraciclina (tetA, tet34)
26	TODOS OS AVALIADOS. Aminoglicosídeos (aadA1); Betalactâmicos (blaTEM-116); Diaminopirimidínicos (dfrA1); Macrolídeos (mphA); Tetraciclina (tetA, tet34)
27	Betalactâmicos (blaCTX-M-Gp1, blaOXA-1-like, blaOXA-48-like, blaPER, blaSHV); Quinolonas (oqxA, oqxB, qnrA, qnrB, qnrS); Sulfonamidas (sul1)
28	Betalactâmicos (blaCTX-M-Gp1, blaCTX-M-Gp2, blaGES, blaPER, blaSHV, blaVEB)
29	Quinolona (oqxA, oqxB, qepA, qnrB, qnrS)
30	NA
31	Floresta: Diaminopirimidínicos (dfrB7_1, dfrB3); Glicopeptídeos (vanRO); Macroclíco (rbpA) / Agricultura: Betalactâmicos (blaLRA-9, blaBJP-1); Diaminopirimidínicos (dfrB3); Glicopeptídeos (vanRO, vanSO); Macroclíco (rbpA); Macrolídeos (mtrA)
32	Agricultura: Aminoglicosídeos (aadA, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id); Anfenicóis (cmlA, floR); Betalactâmicos (blaCMY, blaSHV, blaTEM); Diaminopirimidínicos (dfrA); Macroclíco (fosA); Quinolonas (qnrB); Sulfonamidas (sul1, sul2, sul3); Tetraciclina (tetA, tetB, tetC, tet34) / Floresta: Aminoglicosídeos (aac(6')-Ib, aadA, aph(3')-Ia); Anfenicóis (cmlA, floR); Betalactâmicos (blaCMY, blaCTX-M-Gp2, blaCTX-M-Gp-15, blaOXA-1-like, blaSHV, blaTEM); Macroclíco (fosA); Quinolonas (oqxA); Sulfonamidas (sul1, sul2, sul3); Tetraciclina (tetA, tetB, tetC)
33	NA
34	Agricultura e Floresta: Polipeptídeo (mcr1)
35	Agricultura: Sulfonamidas (sul1, sul2)
36	Betalactâmicos (blaGES, blaSHV, blaTEM); Sulfonamidas (sul1, sul2)
N	Elementos genéticos móveis avaliados
1	NA
2	NA
3	NA
4	NA
5	Plasmídeos (ColE-like, IncA/C, IncF, IncFIA, IncFIB, IncFIC, IncFIIA, IncHI1, IncHI2, IncI1, IncK, IncL/M, IncN, IncP, IncR, IncT, IncU, IncW, IncX, IncY)
6	NA
7	NA
8	NA
9	NA
10	Plasmídeos (ColE-like, IncA/C, IncF, IncFIA, IncFIB, IncFIC, IncFIIS, IncFrepB, IncHI1, IncHI2, IncI1, IncK, IncL/M, IncN, IncP, IncR, IncT, IncU, IncW, IncX, IncY); Integrons (Int1, Int2, Int3)
11	NA
12	NA

13	Plasmídeos (ColE-like, IncA/C, IncFIA, IncFIB, IncFIC, IncFrepB, IncHI1, IncHI2, IncI1, IncK, IncL/M, IncN, IncP, IncR, IncT, IncU, IncW, IncX, IncY)
14	Integrans (IntI1)
15	NA
16	NA
17	NA
18	NA
19	NA
20	NA
21	NA
22	NA
23	NA
24	NA
25	Plasmídeos (ColpVC, IncFIA, IncFIB, IncFII, IncN3, IncP1)
26	Plasmídeos (ColRNAI, IncF, IncFIB, IncFII)
27	Integrans (Int1, Int2, Int3); Plasmídeos (ColE-like, IncA/C, IncB/O, IncFIA, IncFIB, IncFIC, IncFIIA, IncFrepB, IncHI1, IncHI2, IncI1, IncK, IncL/M, IncN, IncP, IncR, IncT, IncU, IncW, IncX, IncY)
28	NA
29	Plasmídeos (ColE-like, IncA/C, IncB/O, IncF, IncFIA, IncFIB, IncFIC, IncFIIA, IncHI1, IncHI2, IncI1- γ , IncK, IncL/M, IncN, IncP, IncR, IncT, IncU, IncW, IncX, IncY)
30	Integrans (Int1, Int2, Int3)
31	NA
32	#Integrans (Int1, Int2, Int3); Plasmídeos (ColE-like, ColpVC, ColRNAI, IncA/C, IncFIA, IncFIB, IncFIC, IncFrepB, IncHI1, IncHI2, IncI1, IncK, IncL/M, IncN, IncP, IncR, IncT, IncU, IncW, IncX, IncY)
33	NA
34	NA
35	NA
36	Integrans (Int1, Int2)
N	Elementos genéticos móveis detectados
1	NA
2	NA
3	NA
4	NA
5	Plasmídeos (ColE-like, IncF, IncFIA, IncFIB, IncHI1, IncI1, IncK)
6	NA
7	NA
8	NA
9	NA

10 **Plasmídeos** (ColE-like, IncF, IncFIA, IncFIB, IncHI1, IncI1, IncK, IncP, IncR, IncU, IncY); **Integrans** (Int1)
11 NA
12 NA
13 **Plasmídeos** (ColE-like, IncFIA, IncFIB, IncFrepB, IncHI1, IncI1, IncK)
14 **Integrans** (Int1)
15 NA
16 NA
17 NA
18 NA
19 NA
20 NA

21 NA
22 NA

23 NA
24 NA
25 **TODOS OS AVALIADOS. Plasmídeos** (ColpVC, IncFIA, IncFIB, IncFII, IncN3, IncP1)
26 **TODOS OS AVALIADOS. Plasmídeos** (ColRNAI, IncF, IncFIB, IncFII)
27 **Integrans** (intI1); **Plasmídeos** (ColE-like, IncL/M)
28 NA
29 **Plasmídeos** (ColE-like)
30 **Integrans** (intI1);
31 NA
32 **#Integrans** (Int1); **Plasmídeos** (ColE-like, ColpVC, ColRNAI, IncFIA, IncFIB, IncFIC, IncFrepB, IncHI1, IncI1, IncN, IncP, IncR, IncU, IncY)
33 NA
34 NA
35 NA

36 **Integrans** (Int1)

N Referência

- 1 PARANHOS et al., 2021
- 2 AGOSTINHO et al., 2020
- 3 LIMA et al., 2022
- 4 FERREIRA et al., 2023
- 5 FURLAN et al., 2019c
- 6 GAZAL et al., 2021
- 7 RESENDE et al., 2014b
- 8 COSTA et al., 2006
- 9 MARIN et al., 2014

- 10 FURLAN et al., 2020
- 11 PARENTE et al., 2020
- 12 GONÇALVES et al., 2022
- 13 FURLAN et al., 2019b
- 14 CERGOLE-NOVELLA et al., 2011
- 15 SCUR et al., 2014
- 16 LEAL et al., 2012
- 17 RIBEIRO et al., 2020
- 18 RESENDE et al., 2014a
- 19 LINO; MARIN, 2009
- 20 SEGANFREDO et al., 2022

- 21 FURLAN; STEHLING, 2018
- 22 BRISOLA et al., 2019

- 23 LEMOS et al., 2021
- 24 BASTOS et al., 2018
- 25 FURLAN; STEHLING, 2019a
- 26 FURLAN; STEHLING, 2019b
- 27 FURLAN et al., 2019a
- 28 BRAZ et al., 2018
- 29 GALLO et al., 2019
- 30 PITONDO-SILVA et al., 2014
- 31 ORDINE et al., 2023
- 32 FURLAN; STEHLING, 2021
- 33 VAN ELSAS; PEREIRA, 1986
- 34 OLIVEIRA et al., 2019
- 35 OLIVEIRA et al., 2021

- 36 LOPES et al., 2022

* = Informação não descrita no artigo

** = Mais genes foram avaliados e encontram-se no material suplementar do artigo

= Não há diferenciação entre os ambientes especificados, sendo considerado o resultado para agricultura e floresta

NA = Não avaliado

Apêndice B: Material complementar referente ao artigo do capítulo III – Resistência a metais pesados em bactérias isoladas de resíduos animais de diferentes sistemas de produção

Tabela S1. Informações referentes as cepas bacterianas isoladas de resíduos animais durante o processo de compostagem

Espécie bacteriana	Código	Resíduo animal	Compostagem (dias)
<i>Escherichia coli</i>	CC25	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC28	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC41	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC42	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC43	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC47	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC81	Cama de cavalo	15
<i>Escherichia coli</i>	CC102	Cama de cavalo	30
<i>Escherichia coli</i>	CC105	Cama de cavalo	30
<i>Escherichia coli</i>	CC109	Cama de cavalo	30
<i>Escherichia coli</i>	CC111	Cama de cavalo	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO16	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO19	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO22	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO38	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO39	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO77	Cama de aviário orgânica	15
<i>Escherichia coli</i>	CAO79	Cama de aviário orgânica	15
<i>Escherichia coli</i>	CAO110	Cama de aviário orgânica	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO116	Cama de aviário orgânica	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO118	Cama de aviário orgânica	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO143	Cama de aviário orgânica	60
<i>Escherichia coli</i>	CAO166	Cama de aviário orgânica	90
<i>Escherichia coli</i>	CAC10	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC11	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC12	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC13	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC14	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC44	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC45	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC75	Cama de aviário convencional	15
<i>Escherichia coli</i>	CAC84	Cama de aviário convencional	15
<i>Escherichia coli</i>	CAC98	Cama de aviário convencional	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC99	Cama de aviário convencional	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC101	Cama de aviário convencional	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC113	Cama de aviário convencional	30
<i>Enterobacter asburiae</i>	CC27	Cama de cavalo	0
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAO18	Cama de aviário orgânica	0
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAC15	Cama de aviário convencional	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	CC160	Cama de cavalo	90
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO83	Cama de aviário orgânica	15
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO85	Cama de aviário orgânica	15
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO87	Cama de aviário orgânica	15
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO88	Cama de aviário orgânica	15
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO141	Cama de aviário orgânica	60
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC115	Cama de aviário convencional	30
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC158	Cama de aviário convencional	90
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC197	Cama de aviário convencional	120
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC208	Cama de aviário convencional	120

<i>Enterobacter kobei</i>	CAO24	Cama de aviário orgânica	0
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC134	Cama de aviário convencional	60
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC135	Cama de aviário convencional	60
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC136	Cama de aviário convencional	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC40	Cama de cavalo	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC80	Cama de cavalo	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC82	Cama de cavalo	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC103	Cama de cavalo	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC106	Cama de cavalo	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC112	Cama de cavalo	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC132	Cama de cavalo	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC133	Cama de cavalo	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC131	Cama de cavalo	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC161	Cama de cavalo	90
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO120	Cama de aviário orgânica	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO196	Cama de aviário orgânica	120
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC114	Cama de aviário convencional	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC194	Cama de aviário convencional	120
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC198	Cama de aviário convencional	120
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC199	Cama de aviário convencional	120
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO17	Cama de aviário orgânica	0
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO155	Cama de aviário orgânica	90
<i>Proteus mirabilis</i>	CC62	Cama de cavalo	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CC64	Cama de cavalo	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CC89	Cama de cavalo	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CC90	Cama de cavalo	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CC123	Cama de cavalo	60
<i>Proteus mirabilis</i>	CC145	Cama de cavalo	90
<i>Proteus mirabilis</i>	CC168	Cama de cavalo	120
<i>Proteus mirabilis</i>	CC169	Cama de cavalo	120
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO9	Cama de aviário orgânica	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO37	Cama de aviário orgânica	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO69	Cama de aviário orgânica	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO92	Cama de aviário orgânica	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO93	Cama de aviário orgânica	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO128	Cama de aviário orgânica	60
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO152	Cama de aviário orgânica	90
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC65	Cama de aviário convencional	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC66	Cama de aviário convencional	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC96	Cama de aviário convencional	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC97	Cama de aviário convencional	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC124	Cama de aviário convencional	60
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC170	Cama de aviário convencional	120

Apêndice C: Material complementar referente ao artigo do capítulo IV – Influência de metais pesados na resistência a antimicrobianos em bactérias provenientes de resíduos animais

Tabela S1. Origem das espécies bacterianas

Especie bacteriana	Código	Resíduo animal	Tempo de compostagem (dias)
<i>Citrobacter freundii</i>	CAO173	Cama de aviário orgânica	120
<i>Enterobacter asburiae</i>	CC27	Cama de cavalo	0
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAO18	Cama de aviário orgânica	0
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAC15	Cama de aviário convencional	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO83	Cama de aviário orgânica	15
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO85	Cama de aviário orgânica	15
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO87	Cama de aviário orgânica	15
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO88	Cama de aviário orgânica	15
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO141	Cama de aviário orgânica	60
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC115	Cama de aviário convencional	30
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC158	Cama de aviário convencional	90
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC197	Cama de aviário convencional	120
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC208	Cama de aviário convencional	120
<i>Enterobacter cloacae</i>	CC160	Cama de cavalo	90
<i>Enterobacter kobei</i>	CAO24	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CC25	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC26	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC28	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC41	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC42	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC43	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC47	Cama de cavalo	0
<i>Escherichia coli</i>	CC81	Cama de cavalo	15
<i>Escherichia coli</i>	CC102	Cama de cavalo	30
<i>Escherichia coli</i>	CC105	Cama de cavalo	30
<i>Escherichia coli</i>	CC109	Cama de cavalo	30
<i>Escherichia coli</i>	CC111	Cama de cavalo	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO16	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO19	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO22	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO38	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO39	Cama de aviário orgânica	0
<i>Escherichia coli</i>	CAO77	Cama de aviário orgânica	15
<i>Escherichia coli</i>	CAO79	Cama de aviário orgânica	15
<i>Escherichia coli</i>	CAO110	Cama de aviário orgânica	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO116	Cama de aviário orgânica	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO118	Cama de aviário orgânica	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO143	Cama de aviário orgânica	60
<i>Escherichia coli</i>	CAO166	Cama de aviário orgânica	90
<i>Escherichia coli</i>	CAC10	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC11	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC12	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC13	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC14	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC44	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC45	Cama de aviário convencional	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC75	Cama de aviário convencional	15
<i>Escherichia coli</i>	CAC84	Cama de aviário convencional	15
<i>Escherichia coli</i>	CAC98	Cama de aviário convencional	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC99	Cama de aviário convencional	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC101	Cama de aviário convencional	30

<i>Escherichia coli</i>	CAC113	Cama de aviário convencional	30
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC134	Cama de aviário convencional	60
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC135	Cama de aviário convencional	60
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC136	Cama de aviário convencional	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO120	Cama de aviário orgânica	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO196	Cama de aviário orgânica	120
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC114	Cama de aviário convencional	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC194	Cama de aviário convencional	120
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC198	Cama de aviário convencional	120
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC199	Cama de aviário convencional	120
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC40	Cama de cavalo	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC80	Cama de cavalo	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC82	Cama de cavalo	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC103	Cama de cavalo	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC106	Cama de cavalo	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC112	Cama de cavalo	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC131	Cama de cavalo	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC132	Cama de cavalo	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC133	Cama de cavalo	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC161	Cama de cavalo	90
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO17	Cama de aviário orgânica	0
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO155	Cama de aviário orgânica	90
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO9	Cama de aviário orgânica	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO37	Cama de aviário orgânica	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO69	Cama de aviário orgânica	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO92	Cama de aviário orgânica	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO93	Cama de aviário orgânica	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO128	Cama de aviário orgânica	60
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO152	Cama de aviário orgânica	90
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC65	Cama de aviário convencional	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC66	Cama de aviário convencional	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC96	Cama de aviário convencional	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC97	Cama de aviário convencional	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC124	Cama de aviário convencional	60
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC170	Cama de aviário convencional	120
<i>Proteus mirabilis</i>	CC62	Cama de cavalo	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CC64	Cama de cavalo	15
<i>Proteus mirabilis</i>	CC89	Cama de cavalo	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CC90	Cama de cavalo	30
<i>Proteus mirabilis</i>	CC123	Cama de cavalo	60
<i>Proteus mirabilis</i>	CC145	Cama de cavalo	90
<i>Proteus mirabilis</i>	CC168	Cama de cavalo	120
<i>Proteus mirabilis</i>	CC169	Cama de cavalo	120
<i>Providencia stuartii</i>	CAC74	Cama de aviário convencional	15
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CAC76	Cama de aviário convencional	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC100	Cama de aviário convencional	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC139	Cama de aviário convencional	60
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CC104	Cama de cavalo	30
<i>Serratia marcescens</i>	CAO165	Cama de aviário orgânica	90
<i>Serratia marcescens</i>	CAO206	Cama de aviário orgânica	120
<i>Serratia marcescens</i>	CAO207	Cama de aviário orgânica	120

Tabela S2. Halos de inibição (em mm) das bactérias submetidas ao teste de resistência a antimicrobianos na ausência e presença de nitrato de chumbo, sulfato de cobre e sulfato de zinco

Espécie bacteriana	Sigla	CHUMBO (Pb)																					
		Aminog								Betalac								Fluoro				Sulfo	
		GEN Pb	GEN	AMC Pb	AMC	AMP Pb	AMP	ATM Pb	ATM	CAZ Pb	CAZ	CFO Pb	CFO	CPM Pb	CMP	IPM Pb	IPM	CIP Pb	CIP	SUT Pb	SUT		
Citrobacter freundii	CAO173	23	24	*	*	*	*	30	30	25	24	*	*	30	32	28	25	32	33	32	30		
Enterobacter cloacae	CAO83	19	20	*	*	*	*	31	32	25	26	*	*	30	33	37	28	31	33	29	32		
Enterobacter cloacae	CAO85	19	20	*	*	*	*	30	34	25	24	*	*	28	34	26	27	29	32	29	31		
Enterobacter cloacae	CAO87	19	19	*	*	*	*	30	33	25	25	*	*	31	33	27	26	30	31	30	29		
Enterobacter cloacae	CAO88	18	19	*	*	*	*	25	30	20	23	*	*	27	29	25	25	27	28	26	26		
Enterobacter cloacae	CAO141	21	18	*	*	*	*	31	28	24	22	*	*	30	30	26	24	30	28	28	27		
Enterobacter cloacae	CAC115	19	18	*	*	*	*	30	31	24	25	*	*	30	30	24	25	27	30	24	25		
Enterobacter cloacae	CAC158	20	19	*	*	*	*	0	0	0	0	*	*	0	0	22	21	0	0	28	26		
Enterobacter cloacae	CAC197	20	24	*	*	*	*	30	29	23	26	*	*	28	34	27	26	28	33	30	26		
Enterobacter cloacae	CAC208	24	20	*	*	*	*	32	0	26	0	*	*	30	29	26	25	30	28	31	26		
Enterobacter cloacae	CC160	22	18	*	*	*	*	31	29	28	23	*	*	33	30	28	25	33	31	32	28		
Enterobacter asburiae	CAO18	18	19	9	4	23	24	30	30	24	25	0	9	28	31	23	26	27	28	27	27		
Enterobacter asburiae	CAC15	19	18	0	0	2	20	0	0	0	0	9	9	18	20	24	23	23	24	26	27		
Enterobacter asburiae	CC27	24	23	23	0	9	14	28	31	26	15	8	8	29	30	24	22	34	32	33	20		
Enterobacter kobei	CAO24	19	19	9	0	23	23	31	32	25	25	0	0	28	32	25	23	26	27	30	30		
Escherichia coli	CAO16	19	21	27	25	26	24	31	34	27	27	29	27	35	35	29	31	31	36	31	31		
Escherichia coli	CAO19	18	22	27	26	25	27	35	37	30	30	27	30	35	37	30	32	22	30	31	32		
Escherichia coli	CAO22	19	23	25	25	23	23	34	35	26	28	27	27	34	35	29	31	35	38	33	33		
Escherichia coli	CAO38	19	21	25	24	26	23	33	34	27	28	26	16	34	35	30	31	35	35	32	33		
Escherichia coli	CAO39	19	24	26	26	25	24	33	38	28	31	25	28	34	36	31	33	34	38	33	33		
Escherichia coli	CAO77	21	24	26	25	26	26	35	35	30	32	30	27	35	36	33	32	35	37	30	29		
Escherichia coli	CAO79	23	23	29	24	28	25	37	37	30	30	31	28	40	35	35	32	36	36	34	29		
Escherichia coli	CAO110	19	20	26	25	24	21	32	33	28	30	24	28	36	32	32	28	34	30	32	29		
Escherichia coli	CAO116	20	22	24	25	25	22	34	32	27	29	28	29	35	36	31	31	33	37	30	28		
Escherichia coli	CAO118	18	19	23	22	23	20	31	38	24	25	25	28	31	30	28	28	30	29	27	23		
Escherichia coli	CAO143	20	22	31	26	30	24	35	33	27	30	32	30	37	36	32	32	37	37	34	29		
Escherichia coli	CAO166	11	9	24	22	23	19	30	27	24	22	27	21	34	27	29	26	0	0	0	0		
Escherichia coli	CAC10	0	0	22	21	0	0	11	14	16	15	26	27	14	18	32	32	13	15	0	0		
Escherichia coli	CAC11	17	20	26	25	23	24	30	34	23	26	23	27	34	32	25	28	37	20	28	30		
Escherichia coli	CAC12	19	19	26	26	25	23	34	36	29	27	24	29	32	34	30	30	32	30	30	30		
Escherichia coli	CAC13	18	19	26	29	29	28	31	32	24	25	28	26	28	30	30	28	38	29	26	29		
Escherichia coli	CAC14	17	18	25	0	24	19	31	32	24	23	24	23	32	31	28	25	28	34	26	23		
Escherichia coli	CAC44	19	21	25	24	23	22	33	34	27	26	25	26	34	35	31	26	37	39	30	27		
Escherichia coli	CAC45	30	25	26	26	30	22	40	35	29	30	36	28	38	36	30	35	38	37	30	32		

<i>Escherichia coli</i>	CAC75	20	26	25	22	23	21	34	34	28	26	30	27	33	36	30	31	30	35	28	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC84	24	25	26	23	24	20	32	32	25	26	40	22	35	33	34	28	38	34	27	28
<i>Escherichia coli</i>	CAC98	19	24	23	23	23	20	33	34	27	26	32	26	33	34	29	31	35	33	29	33
<i>Escherichia coli</i>	CAC99	19	23	20	20	22	18	30	30	25	26	25	24	32	32	30	28	30	31	30	31
<i>Escherichia coli</i>	CAC101	25	24	25	20	25	21	30	30	29	25	30	25	35	31	32	28	34	32	33	29
<i>Escherichia coli</i>	CAC113	20	25	23	24	17	18	32	34	25	26	27	24	31	31	27	28	31	32	26	31
<i>Escherichia coli</i>	CC25	21	24	25	22	22	19	32	30	26	24	25	24	35	31	29	20	30	30	26	24
<i>Escherichia coli</i>	CC26	18	21	25	20	22	18	28	24	23	22	29	21	28	24	27	22	28	28	25	22
<i>Escherichia coli</i>	CC28	18	24	10	0	0	0	30	28	22	23	0	0	29	26	24	23	29	27	21	25
<i>Escherichia coli</i>	CC41	20	19	32	32	22	29	37	32	29	31	24	14	33	30	25	23	26	25	28	27
<i>Escherichia coli</i>	CC42	17	23	20	23	19	18	30	28	25	25	27	21	32	30	28	29	25	30	25	22
<i>Escherichia coli</i>	CC43	17	26	22	22	17	12	30	34	26	29	23	22	30	33	27	29	31	31	27	30
<i>Escherichia coli</i>	CC47	22	24	27	23	24	19	34	32	28	26	27	27	39	32	33	30	38	32	31	27
<i>Escherichia coli</i>	CC81	21	26	27	24	23	21	34	36	28	31	25	27	35	36	31	31	32	35	30	33
<i>Escherichia coli</i>	CC102	21	24	24	19	20	0	33	30	28	24	29	22	31	29	30	28	33	29	32	28
<i>Escherichia coli</i>	CC105	20	26	23	24	22	17	32	32	30	26	30	30	30	35	31	30	30	30	30	32
<i>Escherichia coli</i>	CC109	16	23	0	21	19	17	0	32	22	24	32	23	30	31	28	28	34	30	30	28
<i>Escherichia coli</i>	CC111	24	24	22	22	18	12	28	30	26	24	24	24	34	30	30	30	30	30	30	30
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO17	24	24	28	24	*	*	30	30	24	24	22	22	30	30	28	28	30	30	30	30
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO155	24	24	24	22	*	*	30	30	24	26	22	24	30	30	28	26	30	30	30	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO120	22	20	28	24	10	12	0	0	0	0	20	22	24	24	26	28	26	28	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO196	20	24	24	24	10	0	30	28	24	20	20	22	30	26	30	24	28	28	28	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC114	20	26	24	26	10	0	30	30	24	24	26	22	30	30	28	28	28	30	26	26
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC194	20	22	24	22	10	0	30	26	20	24	24	20	30	30	28	28	28	30	28	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC198	24	24	24	28	10	10	30	30	24	24	28	22	30	30	30	26	30	30	30	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC199	22	24	24	24	12	0	28	30	20	24	20	20	30	30	28	26	28	28	28	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC40	16	19	24	21	10	0	30	31	24	27	24	26	30	31	26	28	26	30	24	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC80	30	20	30	26	14	9	41	32	33	28	28	27	39	32	34	28	36	34	0	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC82	31	19	28	24	0	0	36	28	27	23	21	22	34	29	34	27	34	29	34	28
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC103	20	26	32	27	12	14	35	36	27	29	24	23	35	37	32	32	34	34	26	31
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC106	20	27	22	26	8	15	34	35	24	27	25	24	32	31	27	28	32	31	26	28
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC112	18	20	22	26	10	9	35	32	28	27	26	26	33	32	29	28	30	30	29	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC131	30	20	28	25	15	10	40	29	30	25	27	24	36	29	33	26	34	31	0	26
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC132	17	21	25	25	0	8	32	31	25	25	24	25	30	32	25	26	32	33	25	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC133	25	18	23	24	0	0	31	28	25	24	22	18	31	29	26	23	30	27	21	23
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC161	28	21	26	27	17	15	31	30	30	21	19	15	32	36	32	27	33	40	39	26
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC134	20	22	*	*	*	*	32	30	25	24	*	*	31	30	27	28	29	30	27	24
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC135	19	20	*	*	*	*	28	26	22	23	*	*	29	28	23	22	32	33	26	25
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC136	20	18	*	*	*	*	27	26	21	22	*	*	26	28	23	27	28	32	24	28
<i>Serratia marcescens</i>	CAO165	20	21	*	*	*	*	31	29	27	26	*	*	30	30	25	28	28	30	25	26
<i>Serratia marcescens</i>	CAO206	22	21	*	*	*	*	32	30	28	28	*	*	32	32	28	27	38	38	29	27

<i>Serratia marcescens</i>	CAO207	23	21	*	*	*	*	35	30	29	27	*	*	34	31	26	26	32	35	29	26
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO9	23	25	29	31	23	29	23	38	13	30	24	25	32	34	23	27	32	33	25	29
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO37	26	24	30	30	26	30	40	40	30	30	26	26	32	34	24	16	32	34	30	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO69	22	19	29	27	24	25	19	18	11	14	23	22	30	31	22	23	30	30	26	26
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO92	19	19	26	27	22	11	32	28	14	28	21	23	26	29	20	22	21	20	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO93	24	24	28	28	28	30	34	38	30	30	30	22	30	30	22	28	30	32	30	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO128	24	24	26	30	30	28	40	34	30	26	30	24	30	30	22	24	32	32	28	28
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO152	28	26	32	30	30	30	40	34	30	32	28	26	34	30	28	24	30	32	30	22
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC65	18	18	27	25	23	22	32	23	25	24	22	21	29	23	24	19	34	32	0	25
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC66	14	11	24	21	0	0	32	24	29	24	28	21	17	17	22	21	23	19	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC96	24	24	30	28	28	28	34	34	30	28	28	22	30	30	24	22	34	34	26	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC97	21	19	28	26	27	25	34	33	29	23	23	23	25	31	23	23	29	23	28	27
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC124	21	21	28	28	26	26	34	35	29	29	23	24	29	30	14	0	31	31	24	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC170	21	22	12	25	28	28	0	0	0	0	25	0	29	0	27	0	32	31	23	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC62	23	22	0	0	0	0	0	0	16	0	0	0	0	0	24	0	24	21	25	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CC64	0	23	0	0	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC89	0	23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	33	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC90	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC123	22	21	0	0	14	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	0	25
<i>Proteus mirabilis</i>	CC145	23	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC168	23	21	30	28	26	26	22	37	13	30	24	27	36	30	28	24	35	32	26	26
<i>Proteus mirabilis</i>	CC169	24	18	30	26	24	22	20	21	14	26	28	20	34	28	23	22	34	31	25	25
<i>Providencia stuartii</i>	CAC74	18	19	*	*	*	*	29	29	22	20	8	0	29	28	25	23	26	31	27	26
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CAC76	21	20	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	26	23	40	35	26	24
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC100	*	*	*	*	*	*	25	26	24	24	*	*	28	28	25	24	*	*	*	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC139	*	*	*	*	*	*	27	26	26	24	*	*	29	28	30	26	*	*	*	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CC104	*	*	*	*	*	*	29	27	26	24	*	*	30	29	25	26	*	*	*	*

Espécie bacteriana	Sigla	COBRE																							
		Aminog				Betala																Fluoro		Sulfo	
		GEN Cu	GEN Cu	AMC Cu	AMC Cu	AMP Cu	AMP Cu	ATM Cu	ATM Cu	CAZ Cu	CAZ Cu	CFO Cu	CFO Cu	CPM Cu	CMP Cu	IPM Cu	IPM Cu	CIP Cu	CIP Cu	SUT Cu	SUT Cu				
Citrobacter freundii	CAO173	24	24	*	*	*	*	31	30	20	24	*	*	30	32	27	25	34	33	29	30				
Enterobacter cloacae	CAO83	19	20	*	*	*	*	33	32	23	26	*	*	31	33	23	28	29	33	26	32				
Enterobacter cloacae	CAO85	18	20	*	*	*	*	31	34	23	24	*	*	30	34	23	27	28	32	28	31				
Enterobacter cloacae	CAO87	19	19	*	*	*	*	33	33	24	25	*	*	33	33	24	26	30	31	26	29				
Enterobacter cloacae	CAO88	22	19	*	*	*	*	30	30	21	23	*	*	29	29	23	25	29	28	25	26				
Enterobacter cloacae	CAO141	22	18	*	*	*	*	30	28	22	22	*	*	29	30	23	24	29	28	30	27				
Enterobacter cloacae	CAC115	21	18	*	*	*	*	29	31	22	25	*	*	28	30	22	25	30	30	25	25				
Enterobacter cloacae	CAC158	22	19	*	*	*	*	30	0	23	0	*	*	32	0	18	21	27	0	23	26				
Enterobacter cloacae	CAC197	22	24	*	*	*	*	30	29	26	26	*	*	31	34	25	26	30	33	27	26				
Enterobacter cloacae	CAC208	23	20	*	*	*	*	30	0	23	0	*	*	30	29	26	25	30	28	29	26				

<i>Enterobacter cloacae</i>	CC160	23	18	*	*	*	*	26	29	27	23	*	*	33	30	25	25	32	31	30	28
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAO18	19	19	9	4	24	24	31	30	24	25	0	9	30	31	22	26	0	28	25	27
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAC15	20	18	0	0	0	20	33	0	24	0	9	9	32	20	26	23	29	24	30	27
<i>Enterobacter asburiae</i>	CC27	25	23	0	0	16	14	30	31	27	15	7	8	30	30	23	22	32	32	26	20
<i>Enterobacter kobei</i>	CAO24	20	19	0	0	20	23	33	32	24	25	0	0	30	32	23	23	24	27	27	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO16	21	21	27	25	25	24	36	34	32	27	28	27	35	35	32	31	35	36	31	31
<i>Escherichia coli</i>	CAO19	20	22	25	26	24	27	35	37	28	30	28	30	36	37	30	32	23	30	32	32
<i>Escherichia coli</i>	CAO22	19	23	23	25	20	23	33	35	25	28	28	27	34	35	30	31	34	38	31	33
<i>Escherichia coli</i>	CAO38	22	21	25	24	19	23	33	34	26	28	25	16	34	35	31	31	31	35	31	33
<i>Escherichia coli</i>	CAO39	22	24	21	26	24	24	36	38	30	31	27	28	37	36	30	33	37	38	33	33
<i>Escherichia coli</i>	CAO77	22	24	25	25	25	26	36	35	30	32	27	27	36	36	32	32	35	37	30	29
<i>Escherichia coli</i>	CAO79	25	23	24	24	26	25	37	37	31	30	31	28	38	35	30	32	35	36	31	29
<i>Escherichia coli</i>	CAO110	20	20	25	25	22	21	34	33	26	30	28	28	34	32	30	28	32	30	26	29
<i>Escherichia coli</i>	CAO116	24	22	24	25	23	22	34	32	30	29	28	29	38	36	31	31	36	37	34	28
<i>Escherichia coli</i>	CAO118	21	19	21	22	20	20	26	38	24	25	24	28	30	30	27	28	27	29	26	23
<i>Escherichia coli</i>	CAO143	23	22	28	26	25	24	33	33	27	30	31	30	34	36	34	32	36	37	29	29
<i>Escherichia coli</i>	CAO166	10	9	22	22	20	19	30	27	22	22	22	21	27	27	28	26	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC10	10	0	18	21	0	0	10	14	15	15	23	27	0	18	28	32	11	15	0	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC11	19	20	22	25	21	24	32	34	25	26	24	27	32	32	27	28	34	20	26	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC12	23	19	28	26	25	23	28	36	29	27	22	29	32	34	30	30	28	30	30	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC13	20	19	24	29	24	28	32	32	26	25	30	26	34	30	29	28	35	29	29	29
<i>Escherichia coli</i>	CAC14	22	18	25	0	0	19	29	32	26	23	23	23	29	31	22	25	29	34	26	23
<i>Escherichia coli</i>	CAC44	22	21	20	24	20	22	32	34	27	26	26	26	33	35	28	26	35	39	27	27
<i>Escherichia coli</i>	CAC45	22	25	22	26	20	22	35	35	25	30	25	28	30	36	31	35	31	37	29	32
<i>Escherichia coli</i>	CAC75	21	26	24	22	24	21	32	34	26	26	30	27	34	36	28	31	30	35	26	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC84	24	25	23	23	20	20	30	32	26	26	24	22	32	33	29	28	29	34	27	28
<i>Escherichia coli</i>	CAC98	23	24	23	23	19	20	30	34	23	26	23	26	34	34	30	31	32	33	29	33
<i>Escherichia coli</i>	CAC99	22	23	24	20	23	18	29	30	24	26	30	24	31	32	29	28	28	31	22	31
<i>Escherichia coli</i>	CAC101	24	24	20	20	18	21	30	30	25	25	21	25	31	31	26	28	27	32	27	29
<i>Escherichia coli</i>	CAC113	24	25	20	24	13	18	30	34	24	26	21	24	31	31	28	28	31	32	29	31
<i>Escherichia coli</i>	CC25	24	24	23	22	0	19	30	30	24	24	21	24	30	31	29	20	31	30	27	24
<i>Escherichia coli</i>	CC26	25	21	23	20	0	18	29	24	25	22	21	21	30	24	27	22	31	28	25	22
<i>Escherichia coli</i>	CC28	24	24	0	0	0	0	30	28	22	23	0	0	30	26	24	23	32	27	30	25
<i>Escherichia coli</i>	CC41	26	19	30	32	28	29	41	32	31	31	23	14	26	30	20	23	26	25	39	27
<i>Escherichia coli</i>	CC42	24	23	24	23	0	18	29	28	24	25	20	21	30	30	26	29	30	30	31	22
<i>Escherichia coli</i>	CC43	25	26	21	22	0	12	30	34	29	29	22	22	32	33	30	29	31	31	31	30
<i>Escherichia coli</i>	CC47	26	24	24	23	16	19	32	32	25	26	26	27	36	32	33	30	34	32	27	27
<i>Escherichia coli</i>	CC81	26	26	26	24	16	21	35	36	28	31	23	27	35	36	30	31	32	35	27	33
<i>Escherichia coli</i>	CC102	23	24	23	19	0	0	30	30	24	24	22	22	32	29	30	28	29	29	29	28
<i>Escherichia coli</i>	CC105	29	26	19	24	0	17	31	32	24	26	25	30	31	35	27	30	31	30	31	32
<i>Escherichia coli</i>	CC109	24	23	0	21	0	17	29	32	26	24	29	23	29	31	26	28	28	30	27	28
<i>Escherichia coli</i>	CC111	22	24	20	22	12	12	30	30	22	24	20	24	30	30	30	30	30	30	26	30
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO17	24	24	24	24	*	*	30	30	24	24	22	22	28	30	30	28	30	30	34	30

<i>Klebsiella variicola</i>	CAO155	24	24	24	22	*	*	30	30	26	26	20	24	30	30	28	26	30	30	30	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO120	24	20	24	24	0	12	30	0	24	0	20	22	30	24	20	28	30	28	24	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO196	24	24	24	24	0	0	30	28	26	20	22	22	30	26	26	24	28	28	26	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC114	24	26	24	26	0	0	30	30	24	24	20	22	0	30	24	28	26	30	24	26
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC194	24	22	20	22	0	0	30	26	24	24	20	20	30	30	30	28	30	30	26	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC198	26	24	24	28	0	10	30	30	24	24	20	22	30	30	28	26	30	30	28	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC199	24	24	24	24	10	0	30	30	24	24	20	20	30	30	26	26	28	28	28	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC40	19	19	23	21	0	0	30	31	26	27	24	26	31	31	27	28	29	30	26	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC80	22	20	28	26	10	9	34	32	27	28	26	27	35	32	30	28	34	34	27	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC82	20	19	25	24	0	0	28	28	23	23	20	22	30	29	25	27	29	29	25	28
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC103	23	26	28	27	14	14	35	36	29	29	26	23	35	37	32	32	34	34	30	31
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC106	22	27	27	26	7	15	35	35	28	27	26	24	34	31	29	28	31	31	26	28
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC112	21	20	25	26	9	9	33	32	27	27	26	26	32	32	28	28	29	30	26	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC131	20	20	26	25	8	10	30	29	24	25	23	24	30	29	25	26	30	31	25	26
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC132	22	21	23	25	0	8	32	31	26	25	25	25	34	32	26	26	33	33	27	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC133	27	18	23	24	0	0	27	28	23	24	21	18	28	29	26	23	25	27	18	23
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC161	22	21	27	27	12	15	27	30	22	21	15	15	34	36	30	27	29	40	38	26
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC134	21	22	*	*	*	*	29	30	23	24	*	*	29	30	24	28	29	30	23	24
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC135	20	20	*	*	*	*	26	26	19	23	*	*	30	28	21	22	32	33	22	25
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC136	0	18	*	*	*	*	26	26	27	22	*	*	27	28	21	27	32	32	23	28
<i>Serratia marcescens</i>	CAO165	22	21	*	*	*	*	30	29	26	26	*	*	31	30	25	28	34	30	26	26
<i>Serratia marcescens</i>	CAO206	29	21	*	*	*	*	34	30	29	28	*	*	35	32	27	27	40	38	28	27
<i>Serratia marcescens</i>	CAO207	23	21	*	*	*	*	32	30	27	27	*	*	34	31	26	26	34	35	28	26
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO9	20	25	28	31	25	29	34	38	27	30	26	25	32	34	22	27	30	33	24	29
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO37	30	24	32	30	34	30	40	40	34	30	32	26	40	34	22	16	30	34	30	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO69	22	19	28	27	26	25	36	18	26	14	28	22	33	31	24	23	32	30	25	26
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO92	22	19	29	27	24	11	34	28	27	28	22	23	32	29	21	22	20	20	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO93	24	24	30	28	30	30	40	38	30	30	26	22	34	30	24	28	30	32	32	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO128	24	24	34	30	30	28	32	34	30	26	24	24	30	30	24	24	30	32	28	28
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO152	30	26	30	30	32	30	40	34	30	32	26	26	32	30	24	24	32	32	32	22
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC65	22	18	28	25	22	22	36	23	27	24	24	21	30	23	20	19	36	32	0	25
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC66	9	11	22	21	0	0	30	24	25	24	22	21	18	17	20	21	19	19	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC96	24	24	28	28	24	28	36	34	30	28	24	22	34	30	20	22	30	34	30	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC97	18	19	27	26	25	25	36	33	27	23	23	23	32	31	24	23	20	23	25	27
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC124	18	21	29	28	24	26	33	35	26	29	22	24	29	30	23	0	25	31	23	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC170	18	22	0	25	0	28	35	0	23	0	24	0	29	0	23	0	29	31	25	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC62	19	22	28	0	25	0	34	0	21	0	23	0	29	0	24	0	20	21	24	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CC64	18	23	29	0	28	0	34	0	29	0	23	0	30	0	21	0	32	0	24	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC89	17	23	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	10	0	33	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC90	28	20	32	0	26	0	40	0	0	0	0	0	18	0	0	0	0	15	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC123	26	21	0	0	27	0	38	17	27	0	23	0	12	0	27	0	0	31	0	25
<i>Proteus mirabilis</i>	CC145	18	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	21	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC168	18	21	29	28	23	26	22	37	28	30	24	27	30	30	22	24	33	32	23	26

<i>Proteus mirabilis</i>	CC169	18	18	21	26	23	22	32	21	24	26	21	20	28	28	20	22	30	31	22	25
<i>Providencia stuartii</i>	CAC74	20	19	*	*	*	*	32	29	25	20	0	0	31	28	24	23	37	31	25	26
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CAC76	22	20	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	24	23	25	35	24	24
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC100	*	*	*	*	*	*	24	26	23	24	*	*	28	28	17	24	*	*	*	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC139	*	*	*	*	*	*	30	26	26	24	*	*	28	28	21	26	*	*	*	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CC104	*	*	*	*	*	*	28	27	25	24	*	*	29	29	17	26	*	*	*	*
Espécie bacteriana	Sigla	ZINCO (Zn)																			
		Aminog		Betala														Fluoro		Sulfo	
		GEN	GEN	AMC	AMC	AMP	AMP	ATM	ATM	CAZ	CAZ	CFO	CFO	CPM	CMP	IPM	IPM	CIP	CIP	SUT	SUT
		Zn		Zn		Zn		Zn		Zn		Zn		Zn		Zn		Zn		Zn	
<i>Citrobacter freundii</i>	CAO173	24	24	*	*	*	*	31	30	20	24	*	*	30	32	27	25	34	33	29	30
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO83	19	20	*	*	*	*	33	32	23	26	*	*	31	33	23	28	29	33	26	32
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO85	18	20	*	*	*	*	31	34	23	24	*	*	30	34	23	27	28	32	28	31
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO87	19	19	*	*	*	*	33	33	24	25	*	*	33	33	24	26	30	31	26	29
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO88	22	19	*	*	*	*	30	30	21	23	*	*	29	29	23	25	29	28	25	26
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO141	22	18	*	*	*	*	30	28	22	22	*	*	29	30	23	24	29	28	30	27
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC115	21	18	*	*	*	*	29	31	22	25	*	*	28	30	22	25	30	30	25	25
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC158	22	19	*	*	*	*	30	0	23	0	*	*	32	0	18	21	27	0	23	26
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC197	22	24	*	*	*	*	30	29	26	26	*	*	31	34	25	26	30	33	27	26
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC208	23	20	*	*	*	*	30	0	23	0	*	*	30	29	26	25	30	28	29	26
<i>Enterobacter cloacae</i>	CC160	23	18	*	*	*	*	26	29	27	23	*	*	33	30	25	25	32	31	30	28
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAO18	19	19	9	4	24	24	31	30	24	25	0	9	30	31	22	26	0	28	25	27
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAC15	20	18	0	0	0	20	33	0	24	0	9	9	32	20	26	23	29	24	30	27
<i>Enterobacter asburiae</i>	CC27	25	23	0	0	16	14	30	31	27	15	7	8	30	30	23	22	32	32	26	20
<i>Enterobacter kobei</i>	CAO24	20	19	0	0	20	23	33	32	24	25	0	0	30	32	23	23	24	27	27	30
<i>Escherichia coli</i>	CAO16	21	21	27	25	25	24	36	34	32	27	28	27	35	35	32	31	35	36	31	31
<i>Escherichia coli</i>	CAO19	20	22	25	26	24	27	35	37	28	30	28	30	36	37	30	32	23	30	32	32
<i>Escherichia coli</i>	CAO22	19	23	23	25	20	23	33	35	25	28	28	27	34	35	30	31	34	38	31	33
<i>Escherichia coli</i>	CAO38	22	21	25	24	19	23	33	34	26	28	25	16	34	35	31	31	31	35	31	33
<i>Escherichia coli</i>	CAO39	22	24	21	26	24	24	36	38	30	31	27	28	37	36	30	33	37	38	33	33
<i>Escherichia coli</i>	CAO77	22	24	25	25	25	26	36	35	30	32	27	27	36	36	32	32	35	37	30	29
<i>Escherichia coli</i>	CAO79	25	23	24	24	26	25	37	37	31	30	31	28	38	35	30	32	35	36	31	29
<i>Escherichia coli</i>	CAO110	20	20	25	25	22	21	34	33	26	30	28	28	34	32	30	28	32	30	26	29
<i>Escherichia coli</i>	CAO116	24	22	24	25	23	22	34	32	30	29	28	29	38	36	31	31	36	37	34	28
<i>Escherichia coli</i>	CAO118	21	19	21	22	20	20	26	38	24	25	24	28	30	30	27	28	27	29	26	23
<i>Escherichia coli</i>	CAO143	23	22	28	26	25	24	33	33	27	30	31	30	34	36	34	32	36	37	29	29
<i>Escherichia coli</i>	CAO166	10	9	22	22	20	19	30	27	22	22	22	21	27	27	28	26	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC10	10	0	18	21	0	0	10	14	15	15	23	27	0	18	28	32	11	15	0	0
<i>Escherichia coli</i>	CAC11	19	20	22	25	21	24	32	34	25	26	24	27	32	32	27	28	34	20	26	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC12	23	19	28	26	25	23	28	36	29	27	22	29	32	34	30	30	28	30	30	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC13	20	19	24	29	24	28	32	32	26	25	30	26	34	30	29	28	35	29	29	29
<i>Escherichia coli</i>	CAC14	22	18	25	0	0	19	29	32	26	23	23	23	29	31	22	25	29	34	26	23
<i>Escherichia coli</i>	CAC44	22	21	20	24	20	22	32	34	27	26	26	26	33	35	28	26	35	39	27	27

<i>Escherichia coli</i>	CAC45	22	25	22	26	20	22	35	35	25	30	25	28	30	36	31	35	31	37	29	32
<i>Escherichia coli</i>	CAC75	21	26	24	22	24	21	32	34	26	26	30	27	34	36	28	31	30	35	26	30
<i>Escherichia coli</i>	CAC84	24	25	23	23	20	20	30	32	26	26	24	22	32	33	29	28	29	34	27	28
<i>Escherichia coli</i>	CAC98	23	24	23	23	19	20	30	34	23	26	23	26	34	34	30	31	32	33	29	33
<i>Escherichia coli</i>	CAC99	22	23	24	20	23	18	29	30	24	26	30	24	31	32	29	28	28	31	22	31
<i>Escherichia coli</i>	CAC101	24	24	20	20	18	21	30	30	25	25	21	25	31	31	26	28	27	32	27	29
<i>Escherichia coli</i>	CAC113	24	25	20	24	13	18	30	34	24	26	21	24	31	31	28	28	31	32	29	31
<i>Escherichia coli</i>	CC25	24	24	23	22	0	19	30	30	24	24	21	24	30	31	29	20	31	30	27	24
<i>Escherichia coli</i>	CC26	25	21	23	20	0	18	29	24	25	22	21	21	30	24	27	22	31	28	25	22
<i>Escherichia coli</i>	CC28	24	24	0	0	0	0	30	28	22	23	0	0	30	26	24	23	32	27	30	25
<i>Escherichia coli</i>	CC41	26	19	30	32	28	29	41	32	31	31	23	14	26	30	20	23	26	25	39	27
<i>Escherichia coli</i>	CC42	24	23	24	23	0	18	29	28	24	25	20	21	30	30	26	29	30	30	31	22
<i>Escherichia coli</i>	CC43	25	26	21	22	0	12	30	34	29	29	22	22	32	33	30	29	31	31	31	30
<i>Escherichia coli</i>	CC47	26	24	24	23	16	19	32	32	25	26	26	27	36	32	33	30	34	32	27	27
<i>Escherichia coli</i>	CC81	26	26	26	24	16	21	35	36	28	31	23	27	35	36	30	31	32	35	27	33
<i>Escherichia coli</i>	CC102	23	24	23	19	0	0	30	30	24	24	22	22	32	29	30	28	29	29	29	28
<i>Escherichia coli</i>	CC105	29	26	19	24	0	17	31	32	24	26	25	30	31	35	27	30	31	30	31	32
<i>Escherichia coli</i>	CC109	24	23	0	21	0	17	29	32	26	24	29	23	29	31	26	28	28	30	27	28
<i>Escherichia coli</i>	CC111	22	24	20	22	12	12	30	30	22	24	20	24	30	30	30	30	30	30	26	30
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO17	24	24	24	24	*	*	30	30	24	24	22	22	28	30	30	28	30	30	34	30
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO155	24	24	24	22	*	*	30	30	26	26	20	24	30	30	28	26	30	30	30	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO120	24	20	24	24	0	12	30	0	24	0	20	22	30	24	20	28	30	28	24	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO196	24	24	24	24	0	0	30	28	26	20	22	22	30	26	26	24	28	28	26	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC114	24	26	24	26	0	0	30	30	24	24	20	22	0	30	24	28	26	30	24	26
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC194	24	22	20	22	0	0	30	26	24	24	20	20	30	30	30	28	30	30	26	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC198	26	24	24	28	0	10	30	30	24	24	20	22	30	30	28	26	30	30	28	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC199	24	24	24	24	10	0	30	30	24	24	20	20	30	30	26	26	28	28	28	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC40	19	19	23	21	0	0	30	31	26	27	24	26	31	31	27	28	29	30	26	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC80	22	20	28	26	10	9	34	32	27	28	26	27	35	32	30	28	34	34	27	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC82	20	19	25	24	0	0	28	28	23	23	20	22	30	29	25	27	29	29	25	28
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC103	23	26	28	27	14	14	35	36	29	29	26	23	35	37	32	32	34	34	30	31
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC106	22	27	27	26	7	15	35	35	28	27	26	24	34	31	29	28	31	31	26	28
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC112	21	20	25	26	9	9	33	32	27	27	26	26	32	32	28	28	29	30	26	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC131	20	20	26	25	8	10	30	29	24	25	23	24	30	29	25	26	30	31	25	26
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC132	22	21	23	25	0	8	32	31	26	25	25	25	34	32	26	26	33	33	27	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC133	27	18	23	24	0	0	27	28	23	24	21	18	28	29	26	23	25	27	18	23
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC161	22	21	27	27	12	15	27	30	22	21	15	15	34	36	30	27	29	40	38	26
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC134	21	22	*	*	*	*	29	30	23	24	*	*	29	30	24	28	29	30	23	24
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC135	20	20	*	*	*	*	26	26	19	23	*	*	30	28	21	22	32	33	22	25
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC136	0	18	*	*	*	*	26	26	27	22	*	*	27	28	21	27	32	32	23	28
<i>Serratia marcescens</i>	CAO165	22	21	*	*	*	*	30	29	26	26	*	*	31	30	25	28	34	30	26	26
<i>Serratia marcescens</i>	CAO206	29	21	*	*	*	*	34	30	29	28	*	*	35	32	27	27	40	38	28	27
<i>Serratia marcescens</i>	CAO207	23	21	*	*	*	*	32	30	27	27	*	*	34	31	26	26	34	35	28	26

<i>Proteus mirabilis</i>	CAO9	20	25	28	31	25	29	34	38	27	30	26	25	32	34	22	27	30	33	24	29
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO37	30	24	32	30	34	30	40	40	34	30	32	26	40	34	22	16	30	34	30	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO69	22	19	28	27	26	25	36	18	26	14	28	22	33	31	24	23	32	30	25	26
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO92	22	19	29	27	24	11	34	28	27	28	22	23	32	29	21	22	20	20	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO93	24	24	30	28	30	30	40	38	30	30	26	22	34	30	24	28	30	32	32	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO128	24	24	34	30	30	28	32	34	30	26	24	24	30	30	24	24	30	32	28	28
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO152	30	26	30	30	32	30	40	34	30	32	26	26	32	30	24	24	32	32	32	22
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC65	22	18	28	25	22	22	36	23	27	24	24	21	30	23	20	19	36	32	0	25
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC66	9	11	22	21	0	0	30	24	25	24	22	21	18	17	20	21	19	19	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC96	24	24	28	28	24	28	36	34	30	28	24	22	34	30	20	22	30	34	30	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC97	18	19	27	26	25	25	36	33	27	23	23	23	32	31	24	23	20	23	25	27
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC124	18	21	29	28	24	26	33	35	26	29	22	24	29	30	23	0	25	31	23	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC170	18	22	0	25	0	28	35	0	23	0	24	0	29	0	23	0	29	31	25	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC62	19	22	28	0	25	0	34	0	21	0	23	0	29	0	24	0	20	21	24	24
<i>Proteus mirabilis</i>	CC64	18	23	29	0	28	0	34	0	29	0	23	0	30	0	21	0	32	0	24	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC89	17	23	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	10	0	33	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC90	28	20	32	0	26	0	40	0	0	0	0	0	18	0	0	0	0	15	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC123	26	21	0	0	27	0	38	17	27	0	23	0	12	0	27	0	0	31	0	25
<i>Proteus mirabilis</i>	CC145	18	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	21	0
<i>Proteus mirabilis</i>	CC168	18	21	29	28	23	26	22	37	28	30	24	27	30	30	22	24	33	32	23	26
<i>Proteus mirabilis</i>	CC169	18	18	21	26	23	22	32	21	24	26	21	20	28	28	20	22	30	31	22	25
<i>Providencia stuartii</i>	CAC74	20	19	*	*	*	*	32	29	25	20	0	0	31	28	24	23	37	31	25	26
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CAC76	22	20	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	24	23	25	35	24	24
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC100	*	*	*	*	*	*	24	26	23	24	*	*	28	28	17	24	*	*	*	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC139	*	*	*	*	*	*	30	26	26	24	*	*	28	28	21	26	*	*	*	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CC104	*	*	*	*	*	*	28	27	25	24	*	*	29	29	17	26	*	*	*	*

*Amino= Aminoglicoseídeo, Betalac- Betalactâmico, Fluoro- Fluoroquinolona, Sulfo- Sulfonamida.

Tabela S3. Percentagem de bactérias que permaneceram sensíveis (SS-azul) e resistentes (RR-amarelo) e que se tornaram sensíveis (RS-verde) e resistentes (SR-vermelho) aos antimicrobianos na presença de nitrato de chumbo, sulfato de cobre e sulfato de zinco

CHUMBO																				
Espécies bacterianas	GEN				AMC				AMP				ATM				CAZ			
	Amino				Betalact															
	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR
<i>C. freundii</i> (n=1)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. asburiae</i> (n=3)	100	0	0	0	0	67	33	0	33	0	0	67	67	33	0	0	33	33	33	0
<i>E. cloacae</i> (n=10)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	80	10	10	0	80	10	10	0
<i>E. kobei</i> (n=1)	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. coli</i> (n=37)	100	0	0	0	92	2,7	2,7	2,7	89	5,4	5,4	0	95	2,7	0	2,7	97	2,7	0	0
<i>K. aerogenes</i> (n=3)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (n=16)	94	0	0	6,3	100	0	0	0	6,3	69	13	13	94	6,3	0	0	94	6,3	0	0
<i>K. variicola</i> (n=2)	100	0	0	0	100	0	0	0	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> (n=21)	81	4,8	0	14	67	29	0	4,8	62	24	14	0	57	38	0	4,8	43	38	0	19
<i>P. stuartii</i> (n=1)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>A. baumannii</i> (n=1)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>P. aeruginosa</i> (n=3)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>S. marcescens</i> (n=3)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
Espécies bacterianas	CFO				CPM				IPM				CIP				SUT			
	Betalact												Fluoro				Sulfo			
	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR
<i>C. freundii</i> (n=1)	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. asburiae</i> (n=3)	0	100	0	0	67	33	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. cloacae</i> (n=10)	*	*	*	*	90	10	0	0	100	0	0	0	90	10	0	0	100	0	0	0
<i>E. kobei</i> (n=1)	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. coli</i> (n=37)	95	2,7	2,7	0	97	2,7	0	0	100	0	0	0	95	5,4	0	0	95	5,4	0	0
<i>K. aerogenes</i> (n=3)	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (n=16)	88	0	13	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	81	6,3	0	13
<i>K. variicola</i> (n=2)	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> (n=21)	67	29	4,8	0	57	33	9,5	0	57	29	14	0	62	14	14	9,5	53	29	9,5	9,5
<i>P. stuartii</i> (n=1)	0	100	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>A. baumannii</i> (n=1)	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (n=3)	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>S. marcescens</i> (n=3)	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
COBRE																				
Espécies bacterianas	GEN				AMC				AMP				ATM				CAZ			
	Amino				Betalact															
	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR
<i>C. freundii</i> (n=1)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. asburiae</i> (n=3)	100	0	0	0	0	100	0	0	67	0	0	33	67	0	33	0	33	0	67	0
<i>E. cloacae</i> (n=10)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	80	0	20	0	80	0	20	0
<i>E. kobei</i> (n=1)	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. coli</i> (n=37)	100	0	0	0	89	2,7	2,7	5,4	68	14	0	19	97	2,7	0	0	97	2,7	0	0
<i>K. aerogenes</i> (n=3)	67	0	0	33	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (n=16)	100	0	0	0	100	0	0	0	13	81	0	1	94	0	6,3	0	94	0	6,3	0
<i>K. variicola</i> (n=2)	100	0	0	0	100	0	0	0	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> (n=21)	95	4,8	0	0	67	9,5	19	4,8	57	14	24	4,8	62	9,5	29	0	62	14	24	0
<i>P. stuartii</i> (n=1)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>A. baumannii</i> (n=1)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>P. aeruginosa</i> (n=3)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>S. marcescens</i> (n=3)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0

Espécies bacterianas	CFO				CPM				IPM				CIP				SUT			
	Betalact												Fluoro				Sulfo			
	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR
<i>C. freundii</i> (n=1)	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. asburiae</i> (n=3)	0	100	0	0	67	0	33	0	3	0	0	0	67	0	0	33	100	0	0	0
<i>E. cloacae</i> (n=10)	*	*	*	*	90	0	10	0	90	0	0	10	90	0	10	0	100	0	0	0
<i>E. kobei</i> (n=1)	0	100	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. coli</i> (n=37)	95	2,7	2,7	0	97	2,7	0	0	100	0	0	0	95	5,4	0	0	95	5,4	0	0
<i>K. aerogenes</i> (n=3)	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (n=16)	88	6,3	6,3	0	94	0	0	6,3	100	0	0	0	100	0	0	0	94	0	6,3	*
<i>K. variicola</i> (n=2)	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> (n=21)	67	14	19	0	57	24	19	0	57	14	29	0	57	24	4,8	14	81	9,5	4,8	4,8
<i>P. stuartii</i> (n=1)	0	100	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>A. baumannii</i> (n=1)	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (n=3)	*	*	*	*	100	0	0	0	33	0	0	67	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>S. marcescens</i> (n=3)	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0

ZINCO

Espécies bacterianas	GEN				AMC				AMP				ATM				CAZ			
	Amino				Betalact															
	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR
<i>C. freundii</i> (n=1)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. asburiae</i> (n=3)	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100	67	0	33	0	33	0	67	0
<i>E. cloacae</i> (n=10)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	80	20	0	0	80	10	10	0
<i>E. kobei</i> (n=1)	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. coli</i> (n=37)	100	0	0	0	14	2,7	2,7	81	14	14	0	73	95	2,7	0	2,7	95	0	2,7	0
<i>K. aerogenes</i> (n=3)	67	0	0	33	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (n=16)	88	0	0	13	94	0	0	6,3	0	81	0	19	88	6,3	0	6,3	88	0	6,3	6,3
<i>K. variicola</i> (n=2)	100	0	0	0	100	0	0	0	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> (n=21)	57	4,8	0	38	62	24	4,8	9,5	52	24	14	9,5	62	9,5	24	4,8	57	9,5	29	4,8
<i>P. stuartii</i> (n=1)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>A. baumannii</i> (n=1)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>P. aeruginosa</i> (n=3)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>S. marcescens</i> (n=3)	100	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0

Espécies bacterianas	CFO				CPM				IPM				CIP				SUT			
	Betalact												Fluoro				Sulfo			
	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR	SS	RR	RS	SR
<i>C. freundii</i> (n=1)	*	*	*	*	100	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. asburiae</i> (n=3)	0	100	0	0	67	0	33	0	0	0	0	100	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. cloacae</i> (n=10)	*	*	*	*	80	0	10	10	10	0	0	90	80	10	0	10	90	0	0	10
<i>E. kobei</i> (n=1)	0	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>E. coli</i> (n=37)	89	5,4	0	5,4	95	2,7	0	2,7	14	0	0	87	92	5,4	2,7	0	95	5,4	0	0
<i>K. aerogenes</i> (n=3)	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (n=16)	88	6,3	6,3	0	94	0	0	6,3	81	0	0	19	94	0	0	6,3	88	6,3	0	6,3
<i>K. variicola</i> (n=2)	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>P. mirabilis</i> (n=21)	62	14	19	4,8	57	14	24	4,8	14	43	0	43	52	29	0	19	57	29	9,5	4,8
<i>P. stuartii</i> (n=1)	0	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>A. baumannii</i> (n=1)	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0	0	100	100	0	0	0	100	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (n=3)	*	*	*	*	100	0	0	0	0	0	0	100	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>S. marcescens</i> (n=3)	*	*	*	*	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0

*Amino= Aminoglicosídeo, Betalac- Betalactâmico, Fluoro- Fluoroquinolona, Sulfo- Sulfonamida.

Apêndice D: Material complementar referente ao artigo do capítulo V – Influência do zinco na resistência a carbapenêmicos em bactérias provenientes de resíduos animais

Tabela S1. Origem das espécies bacterianas

Especie bacteriana	Código	Resíduo animal	Tempo de compostagem (dias)	IMP	MER	MBL
<i>Citrobacter freundii</i>	CAO173	Cama de aviário orgânica	120	+	+	
<i>Enterobacter asburiae</i>	CC27	Cama de cavalo	0	+	+	
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAO18	Cama de aviário orgânica	0	+	+	
<i>Enterobacter asburiae</i>	CAC15	Cama de aviário convencional	0	+		
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO83	Cama de aviário orgânica	15	+		
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO85	Cama de aviário orgânica	15	+		
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO87	Cama de aviário orgânica	15			
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO88	Cama de aviário orgânica	15	+		
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAO141	Cama de aviário orgânica	60	+	+	
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC115	Cama de aviário convencional	30	+		
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC158	Cama de aviário convencional	90	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC197	Cama de aviário convencional	120	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAC208	Cama de aviário convencional	120	+		
<i>Enterobacter cloacae</i>	CC160	Cama de cavalo	90	+	+	
<i>Enterobacter kobei</i>	CAO24	Cama de aviário orgânica	0	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	CC25	Cama de cavalo	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CC26	Cama de cavalo	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CC28	Cama de cavalo	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CC41	Cama de cavalo	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CC42	Cama de cavalo	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CC43	Cama de cavalo	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CC47	Cama de cavalo	0			
<i>Escherichia coli</i>	CC81	Cama de cavalo	15			
<i>Escherichia coli</i>	CC102	Cama de cavalo	30	+		
<i>Escherichia coli</i>	CC105	Cama de cavalo	30	+		
<i>Escherichia coli</i>	CC109	Cama de cavalo	30			
<i>Escherichia coli</i>	CC111	Cama de cavalo	30			
<i>Escherichia coli</i>	CAO16	Cama de aviário orgânica	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO19	Cama de aviário orgânica	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO22	Cama de aviário orgânica	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO38	Cama de aviário orgânica	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO39	Cama de aviário orgânica	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO77	Cama de aviário orgânica	15	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO79	Cama de aviário orgânica	15			
<i>Escherichia coli</i>	CAO110	Cama de aviário orgânica	30	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO116	Cama de aviário orgânica	30	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO118	Cama de aviário orgânica	30	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO143	Cama de aviário orgânica	60	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAO166	Cama de aviário orgânica	90	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC10	Cama de aviário convencional	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC11	Cama de aviário convencional	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC12	Cama de aviário convencional	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC13	Cama de aviário convencional	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC14	Cama de aviário convencional	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC44	Cama de aviário convencional	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC45	Cama de aviário convencional	0	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC75	Cama de aviário convencional	15	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC84	Cama de aviário convencional	15	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC98	Cama de aviário convencional	30	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC99	Cama de aviário convencional	30	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC101	Cama de aviário convencional	30	+		
<i>Escherichia coli</i>	CAC113	Cama de aviário convencional	30	+		

<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC134	Cama de aviário convencional	60			
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC135	Cama de aviário convencional	60			
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CAC136	Cama de aviário convencional	60			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO120	Cama de aviário orgânica	30			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAO196	Cama de aviário orgânica	120			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC114	Cama de aviário convencional	30	+		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC194	Cama de aviário convencional	120			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC198	Cama de aviário convencional	120	+	+	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CAC199	Cama de aviário convencional	120			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC40	Cama de cavalo	0			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC80	Cama de cavalo	15			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC82	Cama de cavalo	15			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC103	Cama de cavalo	30			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC106	Cama de cavalo	30			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC112	Cama de cavalo	30			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC131	Cama de cavalo	60			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC132	Cama de cavalo	60			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC133	Cama de cavalo	60			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CC161	Cama de cavalo	90	+	+	
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO17	Cama de aviário orgânica	0			
<i>Klebsiella variicola</i>	CAO155	Cama de aviário orgânica	90			
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO9	Cama de aviário orgânica	0	+		
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO37	Cama de aviário orgânica	0			
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO69	Cama de aviário orgânica	15	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO92	Cama de aviário orgânica	30	+		
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO93	Cama de aviário orgânica	30			
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO128	Cama de aviário orgânica	60	+	+	
<i>Proteus mirabilis</i>	CAO152	Cama de aviário orgânica	90			
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC65	Cama de aviário convencional	15	+	+	
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC66	Cama de aviário convencional	15	+		
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC96	Cama de aviário convencional	30	+		
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC97	Cama de aviário convencional	30	+	+	
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC124	Cama de aviário convencional	60			
<i>Proteus mirabilis</i>	CAC170	Cama de aviário convencional	120			
<i>Proteus mirabilis</i>	CC62	Cama de cavalo	15			
<i>Proteus mirabilis</i>	CC64	Cama de cavalo	15			
<i>Proteus mirabilis</i>	CC89	Cama de cavalo	30			
<i>Proteus mirabilis</i>	CC90	Cama de cavalo	30			
<i>Proteus mirabilis</i>	CC123	Cama de cavalo	60			
<i>Proteus mirabilis</i>	CC145	Cama de cavalo	90			
<i>Proteus mirabilis</i>	CC168	Cama de cavalo	120			
<i>Proteus mirabilis</i>	CC169	Cama de cavalo	120	+	+	
<i>Providencia stuartii</i>	CAC74	Cama de aviário convencional	15	+		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CAC76	Cama de aviário convencional	15	+		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC100	Cama de aviário convencional	30	+		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CAC139	Cama de aviário convencional	60	+	+	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CC104	Cama de cavalo	30	+		
<i>Serratia marcescens</i>	CAO165	Cama de aviário orgânica	90			
<i>Serratia marcescens</i>	CAO206	Cama de aviário orgânica	120			
<i>Serratia marcescens</i>	CAO207	Cama de aviário orgânica	120			