

UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL COM ÊNFASE EM
PRODUTOS BIOATIVOS

LEILA ALVES DE OLIVEIRA

**PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE
ESTUDANTES, FUNCIONÁRIOS E ANIMAIS DE UM COLÉGIO ESTADUAL
AGRÍCOLA.**

Umuarama
2025

LEILA ALVES DE OLIVEIRA

**PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE
ESTUDANTES, FUNCIONÁRIOS E ANIMAIS DE UM COLÉGIO ESTADUAL
AGRÍCOLA.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos com área de concentração em Saúde Única.

Orientação: Dra. Daniela Dib Gonçalves

Umuarama
2025

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Paranaense.**

O48p Oliveira, Leila Alves de.

Perfil de resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de
estudantes, funcionários e animais de um Colégio Estadual
Agrícola / Leila Alves de Oliveira. – Umuarama : Universidade
Paranaense - UNIPAR, 2025.

110 f.

Orientadora: Dr^a. Daniela Dib Gonçalves.

Tese (Doutorado) – Universidade Paranaense - UNIPAR.

1. Antibióticos. 2. *E. coli*. 3. Gene *mecA*. 4. Multidroga
resistente. 5. Saúde única. I. Universidade Paranaense -
UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 636.089692

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da **Universidade Paranaense** como requisito para a obtenção do título de Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – Área de Concentração Saúde Única, sob orientação da Dra. Daniela Dib Gonçalves.

**PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE
ESTUDANTES, FUNCIONÁRIOS E ANIMAIS DE UM COLÉGIO ESTADUAL
AGRÍCOLA.**

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento à pesquisa abaixo relacionadas:

- 1 UNIPAR: Universidade Paranaense;
- 2 CAPES: Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior;
- 3 CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

LEILA ALVES DE OLIVEIRA

**PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE
ESTUDANTES, FUNCIONÁRIOS E ANIMAIS DE UM COLÉGIO ESTADUAL
AGRÍCOLA.**

Trabalho de conclusão do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos aprovado como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos pela Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dra. Daniela Dib Gonçalves

Doutora em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina - UEL

Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR (orientador)

Dra. Lidiane Nunes Barbosa

Doutora em Biologia Geral e Aplicada – Universidade Estadual Paulista - UNESP

Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR

Dr. André Giarola Boscarato

Doutor em Ciência Animal – Universidade Paranaense - UNIPAR

Docente da Universidade Paranaense – UNIPAR

Dra. Priscila Luiza Mello

Doutora em Biologia Geral e Aplicada – Universidade Estadual Paulista - UNESP

Docente da Universidade de Guarulhos - UNG

Dr. Walfrido Kühn Svoboda

Doutor em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina - UEL

Docente da Universidade Federal da Integração Latino-America – UNILA

Umuarama, 25 de junho de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora de mestrado e doutorado Daniela Dib Gonçalves, pela paciência, confiança, pelo amparo e por ter me guiado, orientado e acolhido todas as vezes que precisei, por sua solicitude e carinho ao ensinar e orientar.

A minha família, em especial ao meu marido Moacir de Castro Rodrigues pela paciência nos meus dias mais corridos e nas horas de dedicação ao meu estudo, assim como meu filho Felipe Alves de Castro Rodrigues, que sempre compreendeu os meus esforços e minhas rotinas e sempre se fez presente em minha vida, colaborando até com as minhas coletas do doutorado, eu amo vocês.

Agradeço aos graduandos e pós-graduandos que auxiliaram meu trabalho. Gratidão em especial a Francieli Gesleine Capote Bonato, Halison Murilo da Silva Oliveira, Kariny Aparecida Jardim Rúbio Espessato e Jorge Fernandes de Azevedo, pois vocês foram fundamentais durante todo o processo.

Minha eterna gratidão ao Colégio Agrícola Estadual de Umuarama, que possibilitou a realização deste trabalho, as direções que me apoiaram, aos funcionários que prontamente se dispuseram a ajudar, aos alunos da terceira série que participam e a dois alunos que foram fundamentais durante as coletas, meu muito obrigada a Helena e Guilherme.

Agradeço a Universidade Paranaense – UNIPAR, por ter me oportunizado realizar mais esta conquista.

“Nunca é alto o preço a se pagar pelo privilégio de pertencer a si mesmo”.

(Friedrich Nietzsche)

OLIVEIRA, Leila Alves. **Perfil de resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de estudantes, funcionários e animais de um colégio estadual agrícola**. Orientador: Daniela Dib Gonçalves. 2025. 112 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

RESUMO

Os colégios agrícolas desempenham uma função importante na formação dos estudantes, através dos componentes curriculares comuns e aqueles que integram os conhecimentos técnicos específicos a agricultura e a produção animal. O constante contato entre os estudantes nos espaços escolares, com os animais durante as aulas práticas e funcionários, podem predispor a contaminação e disseminação de agentes patogênicos. Esta pesquisa teve como objetivo identificar a presença de resistência bacteriana em isolados de *Staphylococcus* spp. e de enterobactérias provenientes de estudantes, funcionários e animais (bovinos, suínos, equino e aves) de um Colégio Estadual Agrícola localizado na região Noroeste do Estado do Paraná, Brasil. A coleta das amostras foi por meio de swab nasal de bovinos, suínos, equino e aves, swab da superfície das mãos de estudantes e funcionários, onde os isolados foram submetidos ao teste de suscetibilidade aos antimicrobianos por difusão em disco de ágar, identificação molecular de *Staphylococcus aureus*, análise de gene *mecA* por reação em cadeia pela polimerase e teste fenotípico para ESBL (beta-lactamase de espectro estendido). Das 74 amostras de animais, 78,4% foram isoladas para *Staphylococcus*, destas 46,6% identificadas como *Staphylococcus* Coagulase Positiva e 53,4% como *Staphylococcus* Coagulase Negativa. Apresentaram-se como multidroga resistente 93,1% dos isolados dos animais com 100% de resistência a Oxacilina, 93% Clindamicina e 72,4% Ceftriaxona, não sendo observado a presença de gene *mecA*. Foram isoladas enterobactérias em 6,76% das amostras coletadas dos animais, sendo 60% provenientes de bovinos e 40% em suínos, identificando-as fenotipicamente como *E. coli*, onde 80% dos isolados foram identificados como multidroga resistente, com 100% de resistência ao Aztreonam e 60% a Amoxicilina + Clavulanato. Das 42 amostras de estudantes e funcionários 100% foram isolados para *Staphylococcus* spp., ocorrendo em 81% dos isolados a identificação como *Staphylococcus* coagulase negativa e 19% *Staphylococcus* coagulase positiva. Com relação a identificação genotípica, 11,9% dos isolados foram identificados como *Staphylococcus aureus* e 23,8% dos isolados apresentaram gene *mecA*. Ao perfil de resistência observou que 73,8% dos isolados de estudantes e funcionários apresentaram-se como multidroga resistente, com 83,3% de resistência a Ceftriaxona, 81% a Oxacilina e 69% para Cefotaxima. Não foram isoladas enterobactérias nas amostras coletadas de estudantes e funcionários. Os resultados obtidos

indicam a presença de resistência bacteriana em isolados identificados com *Staphylococcus*, em animais, estudantes e funcionários do colégio agrícola, bem como em enterobactérias isolada de animais, observando uma elevada incidência de isolados classificados como multidroga resistente, em grupos semelhantes de fármacos analisados em humanos e animais, portanto é necessário a vigilância quanto a utilização de determinadas classes de antimicrobianos, conscientização dos funcionários e estudantes sobre o uso indiscriminado de antibióticos, adoção de boas práticas durante o manejo dos animais reduzindo a contaminação cruzada através da utilização de equipamentos de proteção individual (EPI's) e higiene frequente das mãos. Ressalta-se a importância da formação integral do estudante para que este possa replicar e disseminar estes conhecimentos dentro e fora do ambiente escolar.

Palavras-chave: Antibióticos. *E. coli*. Gene *mecA*. Multidroga Resistente. Saúde Única.

OLIVEIRA, Leila Alves. **Antimicrobial resistance profile of bacteria isolated from students, staff and animals of a state agricultural college.** Advisor: Daniela Dig Gonçalves. 2025. 112 p. Thesis (Doctorate degree in Animal Science with Emphasis on Bioactive Products) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

ABSTRACT

Agricultural schools play an important role in the education of students, through common curricular components and those that integrate specific technical knowledge in agriculture and animal production. The constant contact between students in school spaces, with animals during practical classes and staff, can predispose to contamination and dissemination of pathogenic agents. This research aimed to identify the presence of bacterial resistance in isolates of *Staphylococcus* spp. and enterobacteria from students, staff and animals (cattle, swine, horses and poultry) of a State Agricultural College located in the northwest region of the State of Paraná, Brazil. Samples were collected using nasal swabs from cattle, pigs, horses and birds, and swabs from the hands of students and employees. The isolates were subjected to antimicrobial susceptibility testing by agar disk diffusion, molecular identification of *Staphylococcus aureus*, *mecA* gene analysis by polymerase chain reaction and phenotypic testing for ESBL (extended spectrum beta-lactamase). Of the 74 animal samples, 78.4% were isolated for *Staphylococcus*, of which 46.6% were identified as coagulase-positive *Staphylococcus* and 53.4% as coagulase-negative *Staphylococcus*. 93.1% of the isolates from the animals were multidrug resistant, with 100% resistance to Oxacillin, 93% to Clindamycin and 72.4% to Ceftriaxone, with no presence of the *mecA* gene. Enterobacteriaceae were isolated in 6.76% of the samples collected from animals, 60% from cattle and 40% from pigs, phenotypically identifying them as *E. coli*, where 80% of the isolates were identified as multidrug resistant, with 100% resistance to Aztreonam and 60% to Amoxicillin + Clavulanate. Of the 42 samples from students and employees, 100% were isolated for *Staphylococcus* spp., with 81% of the isolates being identified as coagulase-negative *Staphylococcus* and 19% as coagulase-positive *Staphylococcus*. Regarding genotypic identification, 11.9% of the isolates were identified as *Staphylococcus aureus* and 23.8% of the isolates presented *mecA* gene. The resistance profile showed that 73.8% of the isolates from students and staff were multidrug resistant, with 83.3% resistance to Ceftriaxone, 81% to Oxacillin and 69% to Cefotaxime. No enterobacteria were isolated in the samples collected from students and staff. The results obtained indicate the presence of bacterial resistance in isolates identified with *Staphylococcus*, in animals, students and staff of the agricultural

school, as well as in enterobacteria isolated from animals, observing a high incidence of isolates classified as multidrug resistant, in similar groups of drugs analyzed in humans and animals. Therefore, it is necessary to monitor the use of certain classes of antimicrobials, raise awareness among staff and students about the indiscriminate use of antibiotics, adopt good practices during animal handling, reducing cross-contamination through the use of personal protective equipment (PPE) and frequent hand hygiene. The importance of comprehensive training of students is emphasized so that they can replicate and disseminate this knowledge inside and outside the school environment.

Keywords: Antibiotics. *E. coli*. *mecA* Gene. Multidrug Resistance. One Health.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo 1 - Perfil de Resistência de *Staphylococcus* spp. e *Escherichia coli* de Animais Pertencentes a um Colégio Estadual Agrícola

Figura 1 – Disposição das instalações dos animais no Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 202463

Figura 2 – Porcentagem de isolados de *Staphylococcus* spp. resistentes para cada antibiótico, coletadas de animais de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.....64

Figura 3 – Porcentagem de Enterobactérias resistentes para cada antibiótico, coletadas de animais de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.....65

Artigo 2 - Resistência Antimicrobiana de Isolados de *Staphylococcus* de Estudantes e Funcionários de um Colégio Estadual Agrícola.

Figura 1 – Porcentagem das amostras resistentes para cada antibiótico, coletadas de estudantes e funcionários de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.....84

LISTA DE TABELAS

Artigo 1 - Perfil de Resistência de *Staphylococcus* spp. e *Escherichia coli* de Animais Pertencentes a um Colégio Estadual Agrícola.

Tabela 1 – Perfil de resistência de isolados de *Staphylococcus* spp. em amostras de swab nasal bovinos, suínos, equinos e aves de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.....66

Tabela 2 – Perfil de resistência de isolados de enterobactérias em amostras de swab nasal coletadas em bovinos e suínos no Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.....70

Artigo 2 - Resistência Antimicrobiana de Isolados de *Staphylococcus* de Estudantes e Funcionários de um Colégio Estadual Agrícola.

Tabela 1 – Perfil de resistência de isolados de *Staphylococcus* spp. em amostras de swab das mãos de estudantes e funcionários de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.....85

SUMÁRIO

	CAPITULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
1.1	Resumo	15
1.2	Revisão da Literatura	16
	Importância das escolas rurais.....	16
	Contaminação microbiana e formação da microbiota.....	17
	<i>Staphylococcus</i>	18
	Enterobactérias.....	20
	Resistência microbiana	21
	Genes de resistência	23
1.3	Referências	24
1.4	Objetivo	34
	CAPÍTULO 2 – ARTIGOS	35
2.1	ARTIGO 1 - Perfil de Resistência de <i>Staphylococcus</i> spp. e <i>Escherichia coli</i> de Animais Pertencentes a um Colégio Estadual Agrícola.....	36
	RESUMO.....	37
	ABSTRACT.....	39
	Introdução	41
	Material e Métodos	43
	Obtenção das amostras	43
	Isolamento bacteriano	44
	Identificação dos isolados	44
	Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos	45
	Teste fenotípico para detecção de cepas produtoras de beta-lactamase de	

	espectro estendido	45
	Identificação molecular de isolados de <i>Staphylococcus aureus</i>	46
	Pesquisa do gene <i>mecA</i>	46
	Resultados	47
	Discussão	48
	Conclusão	56
	Referências	57
2.2	ARTIGO 2 - Resistência Antimicrobiana de Isolados de <i>Staphylococcus</i>	
	de Estudantes e Funcionários de um Colégio Estadual	
	Agrícola.....	71
	RESUMO	72
	ABSTRACT	73
	Introdução	74
	Material e Métodos	75
	Obtenção das amostras	75
	Isolamento bacteriano	75
	Identificação dos isolados	76
	Testes de suscetibilidade aos antimicrobianos	76
	Identificação molecular de isolados de <i>Staphylococcus aureus</i>	76
	Pesquisa de gene <i>mecA</i>	76
	Resultados.....	77
	Discussão.....	77
	Conclusão	81
	Referências	81
3	CONCLUSÃO	88

4	APÊNDICES	89
	APÊNDICE 1 - Termo de consentimento de estudos conduzidos com animais domésticos mantidos fora de instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica.....	90
5	ANEXOS	92
	ANEXO 1 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA)	93
	ANEXO 2 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEPEH).	95
	ANEXO 3 - Normas da Revista Research in Veterinary Science.....	99
	ANEXO 4 - Normas da Revista Semina: ciências agrárias	105

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

MICRORGANISMOS E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE INTERESSE EM SAÚDE ÚNICA EM UM COLÉGIO ESTADUAL AGRÍCOLA

RESUMO

As escolas rurais desempenham papel fundamental na formação profissional, estabelecendo a eficiência produtiva e o aperfeiçoamento dos conhecimentos através de novas técnicas, dentro de um ambiente que proporciona interação entre indivíduos em diferentes meios. Estes ambientes encontram naturalmente microrganismos que podem ocasionar infecções, sejam eles presentes na microbiota transitória de animais e seres humanos ou patogênicos. A contaminação cruzada é a principal causa de ocorrência de surtos de doenças, através do contado com superfícies contaminadas ocorrendo a transferência de microrganismos direta ou indiretamente onde as mãos desempenham um importante papel nesta contaminação. Dentre os inúmeros microrganismos destacam-se o gênero *Staphylococcus* fazendo parte da microbiota de seres humanos e animais, onde algumas espécies assumem características patogênicas ou ainda responsáveis por infecções secundárias. O *Staphylococcus aureus* é a espécie com maior importância no que diz respeito a ocorrência de doenças, embora os humanos sejam o seu principal reservatório, a expansão da indústria pecuária eleva a disseminação nestes ambientes ocorrendo a sua transmissão. As enterobactérias habitam naturalmente o trato intestinal de animais e humanos, mas também estão relacionadas a surtos de doenças veiculadas por alimentos, sendo a sua identificação utilizada como um indicador das condições sanitárias. A resistência antimicrobiana ocorre quando um microrganismo muda sua forma, tornando ineficaz os medicamentos usados para a cura das infecções que causam, ocorrendo por mecanismos diversos, tornando-se uma ameaça a saúde dos seres vivos, pelo declínio de novos fármacos e a elevação da morbidade e mortalidade dos seres humanos e animais. O uso indiscriminado de antibióticos aumenta a pressão seletiva, onde a resistência na produção animal tem grande impacto a saúde animal e pode estar associada a infecções resistentes em humanos. A aquisição de resistência pode ocorrer por meio de transferência genética vertical através da transmissão por gerações ou horizontal por meio de elementos genéticos móveis. Os patógenos animais são um dos principais reservatórios de vários genes de resistência a medicamentos e podem ser continuamente transmitidos aos humanos por meio da cadeia alimentar, tornando-se um grande perigo oculto à segurança pública. O objetivo deste trabalho foi identificar a presença de resistência bacteriana em isolados de *Staphylococcus* spp. e de enterobactérias provenientes de animais (bovinos, suínos, equino e aves), estudantes e funcionários de um Colégio Estadual Agrícola localizado na região Noroeste do Estado do Paraná, Brasil.

Palavras-chave: Microbiota. Contaminação Cruzada. Antimicrobianos. *Staphylococcus*. Enterobactérias.

MICRORGANISMOS E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE INTERESSE EM SAÚDE ÚNICA EM UM COLÉGIO ESTADUAL AGRÍCOLA

1.1.Revisão

Importância das escolas rurais

As escolas de trabalhadores rurais foram criadas a partir da década de 30 com o objetivo de qualificar a mão de obra dos filhos de agricultores, estas, porém foram precedidas pelas patronas agrícolas em 1918, onde configuravam mais como um plano assistencial do que educacional, visando educação moral, cívica e profissional de menores desvalidos e daqueles por incapacidade de educação na família (Martiniak, 2021). O Ensino Agrícola no Brasil surgiu a partir da necessidade de atender às especificidades e demandas do trabalhador do campo, com direito a uma nova profissionalização e educação, onde no ensino agrícola o trabalhador recebia as instruções necessárias para a execução de suas tarefas agrícolas com o objetivo de formar profissionais para trabalhar na agricultura, introduzindo inovações no cultivo, através de novas técnicas no setor agrícola, transformando a população rural em mão de obra ativa e produtiva (Pérez, 2018).

As escolas rurais objetivavam a formação profissional para a agricultura, pois acreditavam que o homem do campo não possuía as técnicas necessárias para tirar o melhor proveito do solo, porém com a aprovação da Lei Orgânica do Ensino Agrícola em 1946, ficaram estabelecidas à função essencialmente na preparação profissional dos trabalhadores rurais, com as finalidades de formação e qualificação profissional aos trabalhos agrícolas, estabelecendo a eficiência produtiva e o aperfeiçoamento dos conhecimentos através da capacidade técnica de trabalhadores agrícolas (Martiniak, 2014).

Observa-se que as fazendas escolas podem proporcionar aos estudantes condições reais de intervenção sobre a realidade, a partir do seu dia a dia na instituição, assim o ensino teórico-prático em agricultura sob esta abordagem do conhecimento científico, ressalta que o ambiente pedagógico e suas interações no campo possibilitam o estudo da produção agrícola pelas ciências envolvidas em suas tecnologias (Ciavatta; Ramos, 2012). O curso Técnico em Agropecuária busca então a formação de profissionais capacitados para a atuação específica em auxílio a produtores rurais, evitando o êxodo rural, aumentando a produtividade, reduzindo custos, visando à melhoria econômica e qualidade de vida de produtores rurais (Coelho *et al.*, 2015).

Contaminação microbiana e a formação da microbiota

Considerando que as escolas formam um grande núcleo de conhecimentos específicos, bem como uma constante interação entre indivíduos em diferentes meios, constata-se que a prevenção de doenças está diretamente ligada a difusão das práticas de higiene. No ambiente escolar, onde as crianças e adolescentes permanecem grande parte do seu dia, são encontrados naturalmente microrganismos que podem ocasionar diversos tipos de infecções. (Ramos *et al.*, 2020). A agregação de crianças em escolas, assim como o hábito de compartilhamento de objetos, ou ainda acesso a bebedouros, salas de aulas e outros ambientes é estabelecido como um fator de transmissão de doenças infecciosas, se tornando um sério problema de disseminação e saúde pública, onde os grupos de idades escolares são pouco estudados com relação a colonização de bactérias (Van Tonder *et al.*, 2023), podendo as escolas servirem como um reservatório para a transmissão de bactérias patogênicas (Taqveem *et al.*, 2024).

Os microrganismos entram em contato direto com os mamíferos logo após o nascimento, porém desde o período de gestação produtos microbianos são passados da mãe para o feto e influenciam o seu desenvolvimento. Esses microrganismos são capazes de colonizar as superfícies epiteliais dos tecidos do hospedeiro, epitélio intestinal e a pele, compondo a microbiota do hospedeiro (Gomez de Agüero *et al.*, 2016). A microbiota é definida como um grupo de microrganismos vivos presentes num determinado habitat, sendo associado a um ecossistema formado por células microbianas constituídas por bactérias, especialmente as anaeróbias, além de arqueias, fungos, alguns protozoários e vírus não residentes. Estão presentes principalmente no trato gastrointestinal, onde há competição entre as espécies comensais e patogênicas por nutrientes e locais para colonização (Lombardi *et al.*, 2019), seguido da pele, porém é um ambiente mais inóspito para a microbiota, devido ao pH desfavorável, exposição ao ar, e menor disponibilidade de nutrientes (Belkaid; Segre, 2014). As bactérias comensais residem em uma relação simbiótica e benéfica aos hospedeiros (Gentile; Weir, 2018).

A composição da microbiota é regulada pelo hospedeiro, onde o sistema imune inato se encarrega de distinguir agentes comensais de agentes com capacidade patogênica presentes na microbiota e também patógenos exógenos (Rakoff-Nahoum; Medzhitov, 2008). Os patógenos em sua maioria expressam fatores de virulência específicos, como moléculas de superfície, enzimas e toxinas que permitem a estes entrarem nas células epiteliais, invadirem e colonizarem outros tecidos e assim desencadearem uma inflamação que pode ser local ou sistêmica (Belkaid; Harrison, 2017).

A microbiota é dinâmica e sofre mudanças em resposta a fatores externos, incluindo estado de saúde, fatores ambientais, estilo de vida, doenças, medicamentos (Scarpellini *et al.*, 2015; El-Sayed, Aleya, Kamel, 2021) e idade do indivíduo (Guo *et al.*, 2020). Está presente onde quer que haja contato com o meio externo, existe um ambiente não estéril. Portanto, eles abrigam o intestino, cavidade oral, narinas, vagina e a camada externa da pele. Cada local tem seus habitantes característicos (Dominguez-Bello *et al.*, 2010).

A microbiota transitória ocupa a parte externa da pele, sobrevive por um curto período de tempo sendo removida pela higienização, sendo adquirida durante o contato direto com seres vivos, ambientes, produtos e equipamentos contaminados, constituindo-se de microrganismos não patogênicos ou potencialmente patogênicos como bactérias, fungos e vírus que não se multiplicam na pele, porém podem causar infecções (Maestri *et al.*, 2020). As bactérias estão presentes nos mais variados ambientes, incluindo o ar, a água, nos alimentos, no corpo humano, nos animais, assumindo uma forma transitória ou patogênica. Muitas dessas bactérias relativamente não são virulentas, porém algumas são capazes de causar doenças que ameaçam a vida, destacando a contaminação associada à má higienização das mãos e superfícies (Murray; Rosenthal; Pfaller, 2010).

A contaminação cruzada é uma das principais causas de ocorrência de surtos de doenças sendo associado com práticas deficientes de higiene e o contato com superfícies contaminadas (equipamentos, utensílios), onde a transferência de microrganismos ocorre direta ou indiretamente desde uma superfície contaminada a um produto não contaminado afetado por sua concentração (Melo *et al.*, 2018). A contaminação por microrganismos patogênicos, possivelmente está ligada ao toque em superfícies inanimadas, onde as mãos são as maiores portas de contágio existentes, facilitando a entrada de agentes infecciosos no organismo, acarretando danos à saúde (Costa *et al.*, 2021).

Staphylococcus

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcaceae* em conjunto com os gêneros *Planococcus*, *Micrococcus* e *Stomatococcus*. Algumas espécies deste gênero fazem parte da microbiota normal de seres humanos (Smith & Andam, 2021) e animais (Pacha *et al.*, 2021), enquanto algumas são patogênicas, causando infecções relacionadas ao sistema respiratório, cardiovascular, à pele, às meninges ou ao trato gastrointestinal (Tuchscherr; Löffler; Proctor, 2020), algumas são responsáveis por infecções secundárias em muitos pacientes, com infecções de base ou até promovendo coinfeções (Chiu *et al.*, 2020).

Microbiologicamente caracteriza-se como bactérias Gram positivas, catalase positivo, anaeróbios facultativos e que perfazem na microscopia, um arranjo semelhante a um cacho de uva (Quinn *et al.*, 2018), não possuem motilidade, não produtoras de esporos e são comumente divididas em coagulase negativa e positiva (capacidade da enzima de coagular o plasma sanguíneo *in vitro*). Entre o grupo coagulase-positivo (CoPS), existem várias espécies, como *S. aureus*, *S. delphini*, *S. intermedius*, *S. lutrae*, *S. pseudintermedius*, *S. coagulans* e duas coagulase-variáveis, *S. hyicus* e *S. agnetis*, já as espécies coagulase-negativas (CoNS) são um grupo heterogêneo com mais de 40 espécies conhecidas (Jiménez-Velasquez *et al.*, 2024).

São microrganismos amplamente distribuídos no meio ambiente sendo bactérias comensais oportunistas do corpo humano e animal (Santana *et al.*, 2010), apesar de sua interação com o hospedeiro os *Staphylococcus* podem causar infecções críticas especialmente em pacientes imunocomprometidos, assumindo características que podem causar infecções, até mesmo generalizadas e em certos casos levando a sepse (Hardy *et al.*, 2019; Fursova *et al.*, 2020).

Na medicina humana estão relacionados a infecções cutâneas como furúnculos, foliculites simples e feridas cirúrgicas, bem como pneumonias, endocardite, osteomielite e formação de abscessos metastáticos (Santos *et al.*, 2007). Já em medicina veterinária relata-se a ocorrência de infecções estafilocócicas causadoras de mastite em bovinos (Freitas *et al.*, 2013), otite externa, endometrite, cistite e osteomielite (Carter *et al.*, 2005).

Dentre as espécies de estafilococos, o *Staphylococcus aureus* é a espécie com maior importância no que diz respeito a veiculações de doenças (Prado *et al.*, 2015) sendo associada a má higienização e a falta de conhecimento (Sousa *et al.*, 2018). Embora os humanos sejam o principal reservatório de *S. aureus*, a expansão contínua da indústria pecuária, a globalização, e o uso ubíquo de antibióticos aumentaram a disseminação de *S. aureus* nestes ambientes (Park; Ronholm, 2021), ocorrendo à transmissão tanto por contato direto humano-humano e/ou humano-animal com portadores assintomáticos (Matuszewska *et al.*, 2020), sugerindo que o contato próximo com animais é um risco importante na transferência entre humanos e animais (Haag; Fitzgerald; Penadés, 2019), onde a narina dos humanos é seu nicho primário (Islan *et al.*, 2020).

A gama de sintomas e sinais clínicos causados por *Staphylococcus aureus* em cada um de seus hospedeiros é vasta. A natureza das interações entre *S. aureus* e seu hospedeiro é o resultado de fatores complexos que incluem o estado de saúde do hospedeiro, a composição genética da cepa de *S. aureus* e o local de colonização do hospedeiro (Coates; Moran; Horsburgh, 2014). As práticas agrícolas por sua natureza exigem contato próximo e

prolongado de humanos e animais, criando condições favoráveis para a transmissão zoonótica e eventual adaptação hospedeira de certas linhagens a novas espécies hospedeiras (Matuszewska *et al.*, 2020).

Enterobactérias

As Enterobactérias são bastonetes Gram negativos da família *Enterobacteriaceae* e caracterizam-se por um grupo amplo de microrganismos que habitam naturalmente o trato intestinal de animais e humanos, mas que também estão relacionadas a surtos de doenças transmitidas por alimentos (Tortora; Funke; Case, 2012). São microrganismos não esporulados, com motilidade variável, oxidase negativos, são anaeróbios facultativos (crescem em aerobiose e anaerobiose), fermentam glicose com ou sem produção de gás, são catalase positivo, reduzem nitrato a nitrito e têm uma necessidade nutricional simples. A falta de atividade citocromo-oxidase constitui uma importante característica, visto que, pode separar enterobactérias de outros bacilos gram negativos fermentadores ou não fermentadores (Koneman *et al.*, 2012; Lavagnoli *et al.*, 2017).

A família *Enterobacteriaceae* engloba inúmeras espécies distribuídas no solo, na água, nas plantas, além do trato respiratório e intestinal de humanos e animais (Tortora; Funke; Case, 2012). As enterobactérias podem ser agrupadas em três categorias: patógenos principais, patógenos oportunistas e não patogênicas (Quinn *et al.*, 2005). Dentre os patógenos oportunistas, os mais comuns incluem espécies dos gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* e *Serratia*. Na categoria de patógenos principais, são destaque para a medicina humana e veterinária as bactérias *Escherichia coli*, espécies de *Salmonella*, *Yersinia* e *Shigella*, responsáveis por uma gama de distúrbios intestinais, assim como de associações septicêmicas (Murray; Rosenthal; Pfaller, 2017, Ortiz *et al.*, 2024).

Muitas das enterobactérias consideradas como patogênicas oportunistas são responsáveis por inúmeros casos de infecções comunitárias e intoxicações alimentares. A *Escherichia coli* é frequentemente associada a infecções do trato urinário, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. são frequentemente associadas a pneumonias nosocomiais. De maneira geral todas as enterobactérias têm sido relacionadas com infecções da corrente sanguínea, periodontites, colangites e outras infecções intra-abdominais. Além destes, organismos como *Salmonella* são causadores de gastroenterites, podendo levar a uma infecção invasiva em alguns pacientes (Livermore, 2012; Lupo *et al.*, 2013).

A identificação da presença de enterobacterias no ambiente são utilizadas como indicadores das condições sanitárias, associados a altos níveis de contaminações, ineficácia no

processo de limpeza e desinfecção, principalmente no controle da qualidade de água e alimentos (Souza, 2006). Estes podem ainda apresentarem diversos fatores de virulência, como endotoxinas, adesinas, invasinas, cápsula, captação de ferro e fator necrosante citotóxico. A endotoxina é frequentemente responsável pela patogenicidade e reações inflamatórias associadas à mastite quando liberada durante o crescimento e morte bacteriana, podendo acarretar a morte do animal devido ao seu efeito sistêmico (Madigan *et al.*, 2016).

O diagnóstico para infecções causadas por bactérias da família *Enterobacteriaceae* é feito com base na anamnese dos achados clínicos, anatomopatológicos e exames laboratoriais (Berchieri Junior *et al.*, 2009). Tradicionalmente, a identificação bacteriana nos laboratórios de microbiologia clínica é realizada por testes fenotípicos, que analisam o perfil metabólico ou a composição química do organismo. Esses testes incluem coloração de Gram, análises de crescimento e morfologia das colônias, reações bioquímicas rápidas e testes auxiliares (Didelot *et al.*, 2012; Woo *et al.*, 2008).

Resistência microbiana

A resistência antimicrobiana ocorre quando microrganismos mudam de forma a tornar ineficazes os medicamentos usados para curar as infecções que causam (Who, 2020). O primeiro mecanismo de resistência foi registrado em 1940 por Abraham e Chain, que isolaram e caracterizaram uma enzima de *Escherichia coli*, a qual era capaz de hidrolisar a molécula de penicilina (Abraham; Chain, 1940).

A resistência bacteriana aos antimicrobianos está presente no mundo inteiro através de mecanismos diversos, onde podem estar envolvidas estruturas especiais celulares ou até mesmo genes que conferem a redução da sensibilidade aos fármacos bactericidas e bacteriostáticos, dificultando a terapêutica farmacológica (Campos *et al.*, 2016). O número de bactérias multirresistentes está aumentando globalmente, tornando as infecções intratáveis uma possibilidade real (Blair *et al.*, 2015).

Apesar dos diversos fármacos com mecanismos antimicrobianos diferentes, os microrganismos estão em um contínuo trabalho de desenvolvimento de resistência a eles, utilizando-se de variados mecanismos, sejam internos, como mutações, ou dependentes do meio externo, como a troca de material genético que contenham genes de resistência entre microrganismos diferentes. O resultado desses processos pode gerar a produção de enzimas hidrolíticas contra fármacos antimicrobianos ou o desenvolvimento de bombas de efluxo que permitem a cepa bacteriana se tornarem resistentes a diversos tipos de antibióticos ao mesmo tempo (Abushaheen *et al.*, 2020).

A resistência aos antimicrobianos é observada como uma ameaça a saúde dos seres vivos, como crescente níveis de morbidade e mortalidade devido a resistência, sendo exacerbada pelo declínio de novos fármacos (Egyir *et al.*, 2020). A resistência aos antibióticos se desenvolve naturalmente como consequência da habilidade da população bacteriana de se adaptar, através de fenômenos multifatoriais (Wannmacher, 2004). O uso indiscriminado de antibióticos aumenta a pressão seletiva e, também, a oportunidade de a bactéria ser exposta aos mesmos, facilitando a aquisição de mecanismos de resistência (Arcilla *et al.*, 2020; Talan *et al.*, 2021). No Brasil, o panorama da resistência bacteriana é preocupante e o crescente surgimento de novas cepas de bactérias multirresistentes nos hospitais brasileiros vem causando preocupação ao sistema de saúde (Menezes; Porto; Pimenta, 2016).

O uso de antimicrobianos na pecuária como profilático ou promotores de crescimento, contribui para o desenvolvimento de resistência a antibióticos (Hosain *et al.*, 2021). A exposição prolongada a baixas concentrações de antibiótico aumenta a pressão seletiva e facilita o surgimento de resistência a bactérias por mutações, transferência horizontal de genes e processos de conjugação (Ortiz *et al.*, 2024)

A resistência antimicrobiana na produção animal tem grande impacto na saúde animal e pode estar associada a infecções resistentes em humanos. O surgimento de resistência antimicrobiana em bactérias comensais ou patógenos animais contribui para a abundância de genes de resistência que podem ser posteriormente transferidos para patógenos humanos (Hoelzer *et al.*, 2017). Existe um reconhecimento crescente de que o uso generalizado de antimicrobianos na produção animal pode contribuir para o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos comumente usados na medicina humana, em grande parte devido ao uso de antimicrobianos comuns em humanos e animais produtores de alimentos (More, 2020).

Bactérias resistentes podem ser trocadas entre animais e trabalhadores agrícolas, devido ao fato de terem mais chances de entrarem em contato direto com animais portadores de bactérias resistentes e que o contato frequente com animais pode ser um fator de risco (Zhang *et al.*, 2016).

Observa-se resistência a tetraciclinas, sulfonamidas e penicilinas frequentemente utilizadas em animais. Dentre os antimicrobianos críticos para a saúde humana, destaca-se a resistência a ciprofloxacino, eritromicina, cefalosporinas de terceira e quarta geração, linezolida e gentamicina (Van Boeckel *et al.*, 2019). Além disso, a resistência pode resultar da troca de material genético entre organismos resistentes e não resistentes (Perez-Rodriguez; Taban, 2019).

A resistência bacteriana a antibióticos pode ser classificada como intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é aquela que ocorre de modo natural, na ausência de pressão seletiva dos antibióticos, por outro lado, a resistência adquirida ocorre através de mutações espontâneas, que surgem naturalmente durante o crescimento bacteriano, ou pela aquisição de DNA exógeno por transferência de organismos resistentes para organismos sensíveis, onde ocorre a captação e incorporação dentro da célula de segmentos de DNA provenientes de outras células presentes no meio circundante. O contato direto entre os produtores e os animais de produção pode ser uma fonte de transmissão de genes de resistência ou de estirpes resistentes entre animais e o Homem (Santos *et al.*, 2019).

Genes de resistência

A aquisição de resistência pode ocorrer por meio de transferência genética vertical através da transmissão por gerações ou horizontal por meio de elementos genéticos móveis, sendo esta última a forma de aquisição de resistência que causa maior preocupação devido à possibilidade de disseminação dos genes de resistência a uma população bacteriana (Lentz *et al.*, 2019). A transferência horizontal de genes é um mecanismo de aquisição de material genético entre bactérias da mesma espécie ou diferentes, ocorrendo em duas condições diferentes: intracelular e extracelular, a forma extracelular, os genes de resistência podem movimentar-se dentro do cromossoma, e/ou entre o cromossoma e os plasmídeos, se estes estiverem inseridos em elementos genéticos móveis, como integrons e transposons. Ao nível intracelular, a transferência dos genes de resistência é devida a quatro mecanismos: transformação, transdução, conjugação, ou ainda por transposição (Murray *et al.*, 2017).

Os patógenos animais são um dos principais reservatórios de vários genes de resistência a medicamentos e podem ser continuamente transmitidos aos humanos por meio da cadeia alimentar, tornando-se um grande perigo oculto à segurança pública. Além disso, o ambiente natural fornece um pool natural de genes de resistência a medicamentos para microrganismos, e as atividades humanas, as mudanças ambientais e a migração animal podem afetar a evolução das bactérias e produzir novos genes de resistência a medicamentos. Os genes de resistência podem ser transmitidos em humanos, animais e no meio ambiente, aumentando o risco de ingestão de genes de resistência em humanos (Bonardi; Pitino, 2019)

A resistência bacteriana é um desafio para o controle de infecções relacionadas à saúde (Alhmidi *et al.*, 2020) e acarreta impacto na morbidade e mortalidade, maior tempo de internação, gastos com procedimentos diagnósticos e terapêuticos. É um problema crescente no âmbito da saúde pública no que se refere às doenças transmissíveis (Peters *et al.*, 2019).

1.2 Referências

- ABUSHAHEEN, M. A.; MUZAHEED; FATANI, A. J.; ALOSAIMI, M.; MANSY, W.; GEORGE, M.; ACHARYA, S.; RATHOD, S.; DIVAKAR, D. D.; JHUGROO, C.; VELLAPPALLY, S.; KHAN, A. A.; SHAIK, J.; JHUGROO, P. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. **Disease a Month**, v. 66, n. 6, 2020. doi: 10.1016/j.disamonth.2020.100971.
- ALHMIDI, H.; CADNUM, J. L.; KOGANTI, S.; JENCSON, A. L.; BONOMOR. A.; WILSON, B. M.; MAYER, J. M.; SAMORE, M. H; DONSKEY, C. J. Shedding of multidrug-resistant gram-negative bacilli by colonized patients during procedures and patient care activities. **American Journal of Infection Control**, v. 48, n. 11, p. 1336-1340, 2020. doi: 10.1016/j.ajic.2020.06.004.
- ARCILLA, M. S.; HATTEM, J. M. V.; BOOTSMA, M. C. J.; GENDEREN, P. J. J. V.; GOORHUIS, A.; GROBUSCH, M. P.; KLAASSEN, C. H. W.; LASHOF, A. M. O.; SCHULTSZ, C.; STOBBERING, E. E.; JONG, M. D.; PENDERS, J.; VERBRUG, H. A; MELLES, D. C. Prevalence and risk factors for carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in a population of Dutch travellers: A cross-sectional study. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 33, 2020. oi: 10.1016/j.tmaid.2019.101547.
- BELKAID, Y.; HARRISON, O. J. Homeostatic Immunity and the Microbiota. **Immunity**, v. 46, n. 4, p. 562-576, 2017. doi: 10.1016/j.immuni.2017.04.008.
- BELKAID, Y.; SEGRE, J. A. Dialogue between skin microbiota and immunity. **Science**, v. 21, n. 346, p. 954-959, 2014. doi: 10.1126/science.1260144.
- BERCHIERI JUNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANASE, M.A.F. **Doenças das aves**. 3 ed. Campinas: Facta, 2009.
- BLAIR, J. M. A.; WEBBER, M. A.; BAYLAY, J.; OGBOLU, D. O.; PIDDOCK, L. J. V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 42-51, 2015. doi: 10.1038/nrmicro3380.

- BONARDI, S.; PITINO, R. Bactérias produtoras de carbapenemase em animais produtores de alimentos, vida selvagem e meio ambiente: um desafio para a saúde humana. **Revista Italiana de Segurança Alimentar**, v. 19, n. 2, 2019. doi: 10.4081/ijfs.2019.7956
- CAMPOS, A. C.; ALBIERO, J.; ECKER, A. B.; KURODA, C. M.; MEIRELLES, L. E.; POLATO, A.; TOGNIM, M. C.; WINGETER, M. A.; TEIXEIRA, J. J. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K pneumoniae*: A systematic review. **American Journal of Infection Control**, v. 44, n. 11, p. 1374–1380, 2016. doi: 10.1016/j.ajic.2016.03.022.
- CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J. C.; LEONARD, F. C.; MAGUIRE, D.; MARKEY, B. K.; QUINN, P. J. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artimed, 2005. 512p.
- CIAVATTA, M.; RAMOS, M. A "era das diretrizes": a disputa pelo projeto de educação dos mais pobres. **Revista Brasileira de Educação**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 49, abr. 2012. doi: 10.1590/S1413-24782012000100002.
- CHIU, K. H. Y.; LAM, R. P. K.; CHAN, E.; LAU, S. K. P.; WOO, P. C. Y. Emergence of *Staphylococcus lugdunensis* as a cause of urinary tract infection: results of the routine use of MALDI-TOF MS. **Microorganisms**, v. 8, n. 381, 2020. doi: 10.3390/microorganisms8030381.
- COATES, R.; MORAN, J.; HORSBURGH, M. J. 2014. *Staphylococci*: colonizers and pathogens of human skin. **Future Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 75–91, 2014. doi: 10.2217/fmb.13.145.
- COELHO, C. D.; BONIATTI, D. J.; VARGAS, L. N.; RECH, R. D.; CAMPAGNOLO, R. P. **Manual do Profissional Técnico Agrícola**. 3. ed. Porto Alegre: Imprensa Livre, 2015. 40 p
- COSTA, G. O. P.; SOUSA, I. D. B.; FERREIRA, R. S. A.; OLIVEIRA, N. G. S.; TOUSSAINT, L. S. M.; RODRIGUES JÚNIOR, A. F.; VIEIRA, R. N. B.; FURTADO, É. Z. L.; SOUSA, M. M.; SOUSA, L. R. G.; ARAÚJO, A. O. L.; LEONEL, L. R. S.; TINEL, O. M. R. S.; GONZALEZ, N. F. F.; OLIVEIRA, K. A. Talking about hygiene with school

adolescents: an experience report. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, 2021.
doi: 10.33448/rsd-v10i13.21640.

DIDELLOT, X.; BOWDEN, R.; WILSON, D. J.; PETO, T. E. A.; CROOKET, D. W.
Transforming clinical microbiology with bacterial genome sequencing. **Nature Reviews**
Genetics, v. 13, n. 9, p. 601–612, 2012. doi: 10.1038/nrg3226.

DOMINGUEZ-BELLO, M. G.; COSTELLO, E. K.; CONTRERAS, M.; MAGRIS, M.;
HIDALGO, G.; FIERER, N.; KNIGHT, R. Delivery mode shapes the acquisition and
structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. **Proceedings of**
the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 107, n. 26, p.
11971–11975, 2010. doi: 10.1073/pnas.1002601107.

EGYIR, B.; HADJIRINB, N. F.; GUPTAB, S.; OWUSUA, F.; AGBODZIA, B.; ADOGLA-
BESSAC, T.; ADDOA, K. K.; STEGGERD, M.; LARSEND, A. R.; HOLMESB, M. A.
Whole-genome sequence profiling of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from
livestock and farm attendants in Ghana. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 22,
p. 527-532, 2020. doi: 10.1016/j.jgar.2020.03.029.

EL-SAYED, A.; ALEYA, L.; KAMEL, M. The link among microbiota, epigenetics, and
disease development. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 23, p.
28926-28964, 2021. doi: 10.1007/s11356-021-13862-1.

FREITAS, A. B.; MOURA, M. A.; PEREIRA, J. Q.; TEIXEIRA, D. R. *Staphylococcus*
aureus resistentes em animais de companhia. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 16, n. 16,
p. 95-101, 2013.

FURSOVA, K.; SOROKIN, A.; SOKOLOV, S.; DZHELYADIN, T.; SHULCHEVA, I.;
SHCHANNIKOVA, M.; NIKANOVA, D.; ARTEM'EVA, O.; ZINOVIEVA4, N.;
BROVKO, F. Virulence Factors and Phylogeny of *Staphylococcus aureus* Associated with
Bovine Mastitis in Russia Based on Genome Sequences. **Frontiers in Veterinary Science**, v.
7, p. 1-10, 2020. doi: 10.3389/fvets.2020.00135.

GENTILE, C. L.; WEIR, T. L. The gut microbiota at the intersection of diet and human health. **Science**, v. 362, p. 776-780, 2018. doi: 10.1126/science.aau5812.

GOMEZ DE AGÜERO, M.; GANAL-VONARBURG, S. C.; FUHRER, T.; RUPP, S.; UCHIMURA, Y.; LI, H.; STEINERT, A.; HEIKENWALDER, M.; HAPFELMEIER, S.; SAUER, U.; MCCOY, K. D.; MACPHERSON, A. J. The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. **Science**, v. 18, n. 351, p. 1296-1302, 2016. doi: 10.1126/science.aad2571.

GUO, M.; MIAO, M.; WANG, Y.; DUAN, M.; YANG, F.; CHEN, Y.; YUAN, W.; ZHENG, H. Developmental differences in the intestinal microbiota of Chinese 1-year-old infants and 4-year-old children. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020. doi: 10.1038/s41598-020-76591-4.

HAAG, A. F.; FITZGERALD, J. R.; PENADÉS, J. R. *Staphylococcus aureus* in animals. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 3, p. 1–10, 2019. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0060-2019.

HARDY, B. L.; BANSAL, G.; HEWLETT, K. H.; ARORA, A.; SCHAFFER, S. D.; KAMAU, E.; BENNETT, J. W.; MERRELL, D. S. Antimicrobial activity of clinically isolated bacterial species against *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1-15, 2019. doi: 10.3389/fmicb.2019.02977.

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, n. 1, p. 1–38, 2017. doi: 10.1186/s12917-017-1131-3.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D., JANDA, W. M., PROCOP, G., SCHRECKENBERGER, P. & WOODS, G. As *Enterobacteriaceae*. In: Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas colorido. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 209- 243. 2012.

ISLAM, M. Z.; JOHANNESSEN, T. B.; LILJE, B.; URTT, T. R.; LARSEN, A. R.; ANGEN, Ø.; LARSEN, J. Investigation of the human nasal microbiome in persons with long- and

short-term exposure to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other bacteria from the pig farm environment. **PLoS One**, v. 15, n. 4, p. 1-12, 2020. doi: 10.1371/journal.pone.0232456.

JIMÉNEZ-VELÁSQUEZ, S.; PACHECO-MONTEALEGRE, M. E.; TORRES-HIGUERA, L.; URIBE-GUTIÉRREZ, L.; BURBANO-DAVID, D.; DÁVILA-MORA, L. L.; RENJIFO-IBÁÑEZ, C.; CARO-QUINTERO, A. Genus-targeted markers for the taxonomic identification and monitoring of coagulase-positive and coagulase-negative *Staphylococcus* species. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 40, n. 11, 2024. doi: 10.1007/s11274-024-04121-9

LAVAGNOLI, S. L.; BASSETTI, B. R.; KAISER, T. D. L.; KUTZ, K. M.; CERUTTI, C. Jr. Factors associated with acquisition of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.25, 2017. doi: 10.1590/1518-8345.1751.2935

LENTZ, S. A. M.; ADAM, F. C.; RIVAS, P. M.; SOUZA, S. N.; CUPERTINO, V. M. L.; BOFF, R. T.; MOTTA, A. S.; WINK, P. L.; BARTH, A. L.; MARTINS, A. F. High levels of resistance to cephalosporins associated with the presence of extended-spectrum and ampc β -lactamases in *Escherichia coli* from broilers in southern brazil. **Microbial Drug Resistance**, v.26, n.5, p.1–5, 2019. doi: 10.1089/mdr.2019.0050.

LIVERMORE, D. M. Current epidemiology and growing resistance of Gramnegative pathogens. **Korean Journal of Internal Medicine**, v. 27, n. 2, p. 128–142, 2012. doi: 10.3904/kjim.2012.27.2.128.

LOMBARDI, V. C.; MEIRLEIR, K. L.; SUBRAMANIAN, K.; NOURANI, S. M.; DAGDA, R. K.; DELANEY, S. L.; PALOTÁS, A. Nutritional modulation of the intestinal microbiota; future opportunities for the prevention and treatment of neuroimmune and neuroinflammatory disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 61, p. 1-16, 2019. doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.04.004.

LUPO, A.; PAPP-WALLACE, K. M.; SENDI, P.; BONOMO, R. A.; ENDIMIANI, A. Non-phenotypic tests to detect and characterize antibiotic resistance mechanisms in

- 477 *Enterobacteriaceae*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 77, n. 3, p. 179–
 478 194, 2013. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.06.001.
- 479
- 480 MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D.
 481 A. **Microbiologia de Brock**. 14 ed. Porto Alegre: ArtMed. 2016.
- 482
- 483 MAESTRI, G.; SCHMELING, T. B.; VALCARENGHI, D.; LEMOS, M. P. Quantificação de
 484 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e mecanismos de resistência nas mãos de
 485 manipuladores de alimentos em uans hospitalares em SC. **Disciplinarum Scientia. Série:**
 486 **Ciências da Saúde, Santa Maria**, v. 21, n. 1, p. 91-105, 2020. doi: 10.37777/dscs.v21n1-
 487 009.
- 488
- 489 MARTINIAK, V. L. A organização pedagógica das escolas agrícolas: preservação da
 490 memória histórica. **Linguagens, Educação e Sociedade**, Teresina, Ano 19, n.30, jan./jun.,
 491 2014. doi: 10.26694/les.v0i30.8713.
- 492
- 493 MARTINIAK, V. L. A institucionalização das escolas agrícolas no Paraná. **Revista Espaço**
 494 **Acadêmico**, Ano 20, n. 228, mai/jun., 2021.
- 495
- 496 MATUSZEWSKA, M.; MURRAY, G. G. R.; HARRISON, E. M.; HOLMES, M. A.;
 497 WEINERT, L. A. The evolutionary genomics of host specificity in *Staphylococcus aureus*.
 498 **Trends in Microbiology**, v. 28, n. 6, p. 465–477, 2020. doi: 10.1016/j.tim.2019.12.007.
- 499
- 500 MELO, E. S.; AMORIM, W. R.; PINHEIRO, R. E. E.; CORRÊA, P. G. N.; CARVALHO, S.
 501 M. R.; SANTOS, A. R. S. S.; BARROS, D. S.; OLIVEIRA, E. T. A. C.; MENDES, C. A.;
 502 SOUSA, F. V. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos
 503 envolvidos em surtos no Brasil: revisão. **Pubvet**, v. 12, n. 10, p. 1-9, 2018. doi:
 504 10.31533/pubvet.v12n10a191.1-9.
- 505
- 506 MENEZES, J. M. R; PORTO, M. L. S; PIMENTA, C. L. R. M. Perfil da infecção bacteriana
 507 em ambiente hospitalar. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 15, n. 2, p. 204–207,
 508 2016. doi:10.9771/cmbio.v15i2.15027.
- 509

- MORE, S. J. European perspectives on efforts to reduce antimicrobial usage in food animal production. **Irish Veterinary Journal**, v. 73, n. 1, p. 1–12, 2020. doi: 10.1186/s13620-019-0154-4.
- MURRAY, P. G.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica: classificação, estrutura e replicação bacteriana**. 6 ed. Mosby Elsevier, 2010.
- MURRAY, P.; ROSENTHAL, K.; PFALLER, M. **Microbiologia Médica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 888p.
- ORTIZ, Y.; CERINO, B.; MORENO, M.; YAÑEZ, E.; HEREDIA, N.; DÁVILA-AVIÑA, J.; QUEZADA, T.; CALLE, A.; GARCÍA, S. Diarrheagenic *Escherichia coli* with Multidrug Resistance in Cattle from Mexico. **Journal of Food Protection**, v. 87, p. 1-7, 2024. doi: 10.1016/j.jfp.2024.100257.
- PACHA, P. A.; MUNOZ, M. A.; GONZÁLEZ-ROCHA, G.; SAN MARTÍN, I.; QUEZADA-AGUILUZ, M.; AGUAYO-REYES, A.; BELLO-TOLEDO, H.; LATORRE, A. A. Molecular diversity of *Staphylococcus aureus* and the role of milking equipment adherences or biofilm as a source for bulk tank milk contamination. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 3, p. 3522-3531, 2021. doi: 10.3168/jds.2020-19121.
- PARK, S.; RONHOLMA, J. *Staphylococcus aureus* in agriculture: lessons in evolution from a multispecies pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 34, n. 2, 2021. doi: 10.1128/CMR.00182-20.
- PÉREZ, P. V. Educação do Campo no Centro Estadual de Educação Profissional Manoel Moreira Pena. **Pleiade**, v. 12, n. 26, p. 144-155, 2018.
- PEREZ-RODRIGUEZ, F.; TABAN B. M. A state-of-art review on multi-drug resistant pathogens in foods of animal origin: risk Factors and Mitigation Strategies. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 2091, 2019. doi: 10.3389/fmicb.2019.02091.
- PRADO, R. R.; FREITAS, E. A.; VALADARES JÚNIOR, E. C.; COSTA, P. C.; SIQUEIRA, M. C.; ROSSI, D. A. *Staphylococcus* spp.: importantes riscos à saúde pública. **Publicações**

em **Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 9, n. 8, p. 363-368, 2015. doi: 10.22256/pubvet.v9n8.363-368.

QUINN, P. J.; MARKEY, B.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512 p.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S. **Microbiologia veterinária: essencial**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2018. 208 p.

RAKOFF-NAHOUM, S.; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition of the indigenous microbial flora. **Mucosal Immunology**, 1 (Suppl 1), S10–S14, 2008. doi: 10.1038/mi.2008.49.

RAMOS, L. S.; GOMES, H. A. L. F.; DE AGUIAR, T. C. G.; SOARES, R. M. S.; CORRÊA, M. X.; MORGAN, L. T. F.; MOTA, J. C.; MOTA, C. A. C.; QUEIROZ, K. A.; COTTA, A. L. G. Instruções de higiene na escola e na sociedade como ação de saúde e prevenção de doenças: uma revisão bibliográfica. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 12, n. 10, 2020. doi: 10.25248/reas.e4558.2020.

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; MENDONÇA, M. B. O. C. Estafilococos em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 545 – 554, 2010. doi:10.1590/1808-1657v77p5452010.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007. doi: 10.1590/S1676-24442007000600005.

SANTOS, W. M.; AROMATARIS, E.; SECOLI, S. R.; MATUOKA, J. Y. Cost-effectiveness of antimicrobial treatment for inpatients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection: a systematic review of economic evidence. **JBIS Database of Systematic Reviews and Implementation Reports**, v.17, n.12, p. 2417-2451, 2019. doi: 10.11124/JBISRIR-D-18-00019.

SCARPELLINI, E.; IANIRO, G.; ATTILI, F.; BASSANELLI, C.; DE SANTIS, A.; GASBARRINI, A. The human gut microbiota and virome: potential therapeutic implications. Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver, v. 47, n. 12, p. 1007-1012, 2015. doi: 10.1016/j.dld.2015.07.008.

SMITH, J. T.; ANDAM, C. P. Extensive horizontal gene transfer within and between species of coagulase-negative *Staphylococcus*. **Genome Biology and Evolution**, v. 13, n. 9, 2021. doi: 10.1093/gbe/evab206.

SOUSA, T. M. G.; GOMES, L. M. D.; CARVALHO, J. T. F.; BARBOSA, F. R.; PEREIRA, D. E. Gênero *Staphylococcus* spp.: Presença e Transmissão Via Manipuladores de Alimentos. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. 1, p. 24-327, 2018.

SOUZA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista de Atenção Primária à Saúde**, v. 9, n.1, p. 83-88, 2006.

TALAN, D. A.; TAKHAR, S. S.; KRISHNADASAN, A.; MOWER, W. R.; PALLIN, D. J.; GARG, M.; FEMLING, J.; ROTHMAN, R. E.; MOORE, J. C.; JONES, A. E.; LOVECCHIO, F.; JUL, J.; STEELE, M. T.; STUBBS, A. M.; CHIANG, W. K.; MORAN, G. J. Emergence of extended-spectrum b-lactamase urinary tract infections among hospitalized emergency department patients in the united states. **Annals of Emergency Medicine**, v. 77, n. 1, p. 32-43, 2021.

TAQVEEM, A.; RASOOL, M. H.; ASLAM, B.; MUJAHID, F.; IBRAR, A.; EJAZ, H.; ABDALLA, A. E.; ALRUWAILI, Y.; ALRUWAILI, M.; ABOSALIF, K.; NAWAZ, Z.; KHURSHID, M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among students: nasal carriage rate, contributing factors, and antimicrobial susceptibility. **Medicina (Kaunas)**, v. 60, n. 10, 2024. doi: 10.3390/medicina60101590.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2012, 934p.

TUCHSCHERR, L.; LÖFFLER, B.; PROCTOR, R. A. Persistence of *Staphylococcus aureus*: multiple metabolic pathways impact the expression of virulence factors in small-colony variants (SCVs). **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 1028, 2020. doi: 10.3389/fmicb.2020.01028.

VAN BOECKEL, T. P.; PIRES, J.; SILVESTER, R.; ZHAO, C.; SONG, J.; CRISCUOLO, N. G.; GILBERT, M.; BONHOEFFER, S.; LAXMINARAYAN, R. Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. **Science**, v. 365, 2019. doi: 10.1126/science.aaw1944.

VAN TONDER, A. J.; MCCULLAGH, F.; MCKEAND, H.; THAW, S.; BELLIS, K.; RAISEN, C.; LAY, L.; AGGARWAL, D.; HOLMES, M.; PARKHILL, J.; HARRISON, E. M.; KUCHARSKI, A.; CONLAN, A. Colonization and transmission of *Staphylococcus aureus* in schools: a citizen science project. **Microbial Genomics**, v. 9, n. 4, p. 1-12, 2023. doi: 10.1099/mgen.0.000993.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida? Uso racional de medicamentos: temas selecionados, v. 1, n. 4, 2004.

WHO; FAO. **INFOSAN activity report 2018-2019**. Geneva: World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020.

WOO, P. C. Y; LAU, S. K. P.; TENG, J. L. L.; TSE, H.; YUEN, K. Y. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, n. 10, p. 908–934, 2008. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02070.x

ZHANG, H.; ZHAI, Z.; LI, Q.; LIU, L.; GUO, S.; LI, Q.; YANG, L.; YE, C.; CHANG, W.; ZHAI, J. Characterization of extended-spectrum b- lactamase – producing *Escherichia coli* isolates from pigs and farm workers. **Journal of Food Protection**, v. 79, n. 9, p. 1630–1634, 2016. doi:10.4315/0362-028X.JFP-16-093.

643 1.3 Objetivo

644

645 Identificar a presença de resistência antimicrobiana em isolados de *Staphylococcus* spp. e de
646 enterobactérias provenientes de animais, estudantes e funcionários de um Colégio Estadual
647 Agrícola localizado na região Noroeste do Estado do Paraná, Brasil.

CAPÍTULO 2

ARTIGOS

**PERFIL DE RESISTÊNCIA DE *Staphylococcus* SPP. E *Escherichia coli* DE ANIMAIS
PERTENCENTES A UM COLÉGIO ESTADUAL AGRÍCOLA**

Artigo editado de acordo com as normas de publicação da Revista Research in Veterinary Science – ISSN 0034-5288.

RESUMO

Os colégios agrícolas abordam os componentes técnicos, desempenhando atividades com o solo, produção agrícola e animal, onde irão conviver e interagir de forma teórico prática com a realidade agrícola. Para o desenvolvimento integral destes estudantes estas escolas possuem diferentes espécies animais que são utilizadas durante as aulas práticas. As instalações onde estes animais são alojados pode haver a presença de bactérias com elevado potencial patogênico, predispondo a sua proliferação e infecção dos animais por meio de excreções, exposição direta ou até mesmo de maneira indireta podendo também contaminar seres humanos, onde os humanos por sua vez também podem ser responsáveis por transportar estas bactérias durante os manejos e aulas prática. Esta pesquisa teve como objetivo identificar a presença de resistência bacteriana a diferentes antibióticos e do gene de resistência *mecA* em isolados de *Staphylococcus* spp. e de enterobactérias provenientes de animais de um Colégio Estadual Agrícola localizado na região Noroeste do Estado do Paraná, Brasil. As coletas foram por meio de swab nasal de bovinos, suínos, equino e aves e os isolados foram submetidos ao teste de suscetibilidade aos antimicrobianos por difusão em disco de ágar, identificação molecular de *Staphylococcus aureus* e análise de gene *mecA* por reação em cadeia pela polimerase. Das 74 amostras, 78,4% foram isoladas para *Staphylococcus*, sendo 66,67% das amostras de bovinos, 57,89% dos suínos e o equino como *Staphylococcus* coagulase negativa, em todas as aves foram isolados *Staphylococcus* spp., porém 90% foram identificadas como coagulase positiva e 10% coagulase negativa, onde 93,1% dos isolados obtidos dos animais apresentaram-se como multidroga resistente, com 100% de resistência a Oxacilina, 93,1% Clindamicina e 72,4% a Ceftriaxona, não sendo observado a presença de gene *mecA*. Em 6,76% das amostras coletadas de bovinos, suínos, equino e aves foram isoladas enterobactérias, sendo 60% provenientes de bovinos e 40% em suínos, identificados como *E. coli*, onde 80% dos isolados foram identificados como multidroga resistente, sendo

100% resistentes ao Aztreonam e 60% a Amoxicilina + Clavulonato e Ceftiofur. Os resultados obtidos indicam a presença de resistência bacteriana em isolados identificados com *Staphylococcus* e em enterobactérias isolada de animais, com elevada incidência de isolados multidroga resistente, em grupos semelhantes de fármacos analisados, portanto é necessário a vigilância quanto a utilização de determinadas classes de antimicrobianos, conscientização dos funcionários e estudantes sobre o uso indiscriminado de antibióticos, adoção de boas práticas durante o manejo dos animais reduzindo a contaminação cruzada e higiene frequente das mãos. Ressalta-se a importância da formação integral do estudante para que este possa replicar e disseminar estes conhecimentos dentro e fora do ambiente escolar.

Palavras-chaves: Antibiótico. *E. coli*. Gene *mecA*. Multidroga resistente. Saúde Única.

ABSTRACT

Agricultural schools address technical components, performing activities with soil, agricultural and animal production, where they will coexist and interact in a theoretical and practical way with the agricultural reality. For the integral development of these students, these schools have different animal species that are used during practical classes. The facilities where these animals are housed may have the presence of bacteria with high pathogenic potential, predisposing their proliferation and infection of the animals through excretions, direct exposure or even indirect exposure, and may also contaminate human beings, where humans in turn may also be responsible for transporting these bacteria during handling and practical classes. This research aimed to identify the presence of bacterial resistance to different antibiotics and the *mecA* resistance gene in isolates of *Staphylococcus* spp. and enterobacteria from animals of a State Agricultural School located in the northwest region of the State of Paraná, Brazil. The collections were made using nasal swabs from cattle, pigs, horses and birds and the isolates were subjected to antimicrobial susceptibility testing by agar disk diffusion, molecular identification of *Staphylococcus aureus* and analysis of the *mecA* gene by polymerase chain reaction. Of the 74 samples, 78.4% were isolated for *Staphylococcus*, with 66.67% of the bovine samples, 57.89% of the swine and the horse as coagulase-negative *Staphylococcus*. In all birds, *Staphylococcus* spp. were isolated, but 90% were identified as coagulase-positive and 10% coagulase-negative, where 93.1% of the isolates obtained from the animals were multidrug resistant, with 100% resistance to Oxacillin, 93% Clindamycin and 72.4% Ceftriaxone, with no presence of the *mecA* gene. *Enterobacteriaceae* were isolated from 6.76% of the samples collected from cattle, pigs, horses and poultry, 60% from cattle and 40% from pigs, identified as *E. coli*, where 80% of the isolates were identified as multidrug resistant, 100% resistant to Aztreonam and 60% to Amoxicillin + Clavulanate and Cefotiofur. The results obtained indicate the presence of

bacterial resistance in isolates identified as *Staphylococcus* and in *Enterobacteriaceae* isolated from animals, with a high incidence of multidrug resistant isolates in similar groups of drugs analyzed. Therefore, it is necessary to monitor the use of certain classes of antimicrobials, raise awareness among employees and students about the indiscriminate use of antibiotics, adopt good practices during animal handling to reduce cross-contamination and frequent hand hygiene. The importance of comprehensive training of students is emphasized so that they can replicate and disseminate this knowledge inside and outside the school environment.

Keywords: Antibiotic. *E. coli*. Gene *mecA*. Multidrug resistant. One Health.

1 Introdução

As escolas rurais foram criadas a partir da década de 30 com o objetivo de qualificar a mão de obra, substituindo os velhos métodos de produção rural por novas técnicas agrícolas, estabelecendo a eficiência produtiva e o aperfeiçoamento dos conhecimentos (Martiniak, 2021), desta forma as aulas podem ser conduzidas em instalações rurais e estas podem possuir condições que favorecem a proliferação de microrganismos patogênicos, como: *Staphylococcus* spp. e *Escherichia coli* entre outras bactérias. Os animais podem se contaminar por meio das fezes, secreções e alimentos contaminados contendo estes microrganismos, assim elevando os riscos de infecções durante o manejo nestes ambientes, bem como a pele e os pêlos podem ser colonizados por múltiplos microrganismos com potencial patogênico (Lenart-Borón; Drab; Chrobak, 2021).

Os *Staphylococcus* spp. são bactérias Gram positivas, anaeróbios facultativos, comumente divididos em coagulase negativa e positiva (Carter et al., 2005). Estão amplamente distribuídos no meio ambiente, como bactérias comensais oportunistas em animais e seres humanos, entretanto em casos de diminuição da imunidade estas assumem características que podem causar infecções com diferentes gravidades (Fursova et al., 2020), como por exemplo associado a mastite em vacas leiteiras (Edward et al., 2018). *Staphylococcus aureus* é a espécie com maior importância, sendo os humanos o principal reservatório, porém com a expansão da agropecuária elevam as chances de sua disseminação na produção animal (Park; Ronholma, 2021).

As Enterobactérias são bastonetes Gram negativos, que habitam naturalmente o trato intestinal de animais e humanos (Tortora; Funke; Case, 2012), destacando as bactérias *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Yersinia* e *Shigella*, como responsáveis por uma gama de distúrbios intestinais, assim como de associações com infecções septicêmicas (Ortiz et al., 2024). A *Escherichia coli* representa um importante reservatório de genes de resistência

antimicrobiana, principalmente através da transferência horizontal de genes e tem sido comumente usado como biomarcador para monitorar gene de resistência antimicrobiana em rebanhos, fazendas e em hospitais (Peng et al., 2022).

A presença de genes de resistência na interação humano, animal e ambiente, destaca-se pelo uso excessivo e indiscriminado de antibióticos na medicina humana e veterinária, acelerando significativamente o desenvolvimento generalizado da resistência aos antibióticos (Li et al., 2021), principalmente devido ao uso comum de fármacos utilizados em seres humanos nos animais que serão destinados ao consumo humano (More, 2020), estabelecendo nos últimos anos uma apreciação ao conceito de saúde única, onde o meio rural cria um elo crucial na disseminação de organismos resistentes a antibióticos (Hooban et al., 2021) tornando um problema crescente no que se refere às doenças transmissíveis (Peters et al., 2019).

A presença da resistência é causada por vários mecanismos, sendo expresso pela identificação de genes (Ramandinianto; Khairullah; Effendi, 2020). Um dos genes de resistência mais importantes em *Staphylococcus* é o gene *mecA*, que é um gene de resistência aos beta-lactâmicos (Borges et al., 2020).

Devido a integração e proximidade entre as criações de diferentes espécies animais, bem como o acesso constante de funcionários e estudantes durante os manejos e nas aulas práticas, podendo transportar excreções em calçados, nas vestimentas, bem como a utilização de utensílios e equipamentos comuns para alimentação e limpeza, ou ainda através das mãos que podem carrear inúmeros microrganismos, esta pesquisa tem como objetivo identificar a presença de resistência bacteriana a diferentes antibióticos e do gene de resistência *mecA* em isolados de *Staphylococcus* spp. e de enterobactérias provenientes de aves, bovinos, suínos e equino de um Colégio Estadual Agrícola localizado na região Noroeste do Estado do Paraná, Brasil.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção das Amostras

Foram coletadas 74 amostras, sendo 24 bovinos, 19 suínos, um equino e 30 aves (galinhas de postura) de um Colégio Estadual Agrícola localizado na região Noroeste do Estado do Paraná, Brasil. As coletas foram realizadas por meio de swab estéril nasal, sendo introduzidos na cavidade nasal do animal, comprimindo-o com movimentos rotatórios, em seguida introduzidos no meio de transporte Stuart para posterior processamento.

As amostras coletadas foram armazenadas em caixas isotérmicas e encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense, Umuarama, Paraná, juntamente com todas as fichas individuais dos animais.

As aves (galinhas de postura) possuem em média 24 meses. Os suínos possuem entre dois meses e três anos de idade, onde os suínos mais velhos são matrizes e reprodutores e os animais mais jovens são destinados ao abate, venda ou reposição para reprodução. O equino por ser oriundo de doação de uma apreensão por maus tratos não foi possível determinar sua idade. Entre os bovinos o intervalo de idade é maior, possuindo animais de trinta dias de vida até mais de dez anos, todos com o propósito para produção leiteira, porém tanto machos como fêmeas foram coletados.

Todos os procedimentos de contenção e de manipulação destes animais foram realizados por médico veterinário e funcionários devidamente treinados pertencentes à equipe do Colégio Estadual Agrícola.

Devido a pouca área disponível ao colégio, as instalações dos bovinos, suínos e aves de corte ficam próximas (figura 1), facilitando o contato entre as diferentes espécies animais,

sendo delimitadas apenas por cercas e paredes dos barracões, já as aves de postura ficam mais afastadas porém perto das unidades didáticas de horticultura e fruticultura.

Os animais são manejados por funcionários do setor, sendo um para a o aviário de postura e três para os setores de bovinocultura, suinocultura e quando alojados aves de corte e piscicultura, não sendo dividida as atividades entres estes, mas sim realizadas em conjunto, ou seja, os mesmos funcionários realizam diariamente os manejos nas diferentes criações animais, havendo desta forma a exposição indiretamente entre os animais pelo ser humano.

2.2 Isolamento Bacteriano

Os swabs foram introduzidos individualmente em tubos contendo 3 mL de meio Brain Heart Infusion (BHI) e incubados em estufa à 37°C por 24 horas. Após este período, as culturas obtidas foram semeadas por estriamento em placas contendo Ágar Sal Mannitol e Ágar MacConkey e incubadas a 37°C por 24 horas para isolamento de bactérias aeróbias Gram-positivas e Gram-negativas. As colônias predominantes em cada placa foram isoladas e repicadas em meio BHI, incubadas por 37°C por 24 horas e, posteriormente, estocadas em glicerol 10% sob temperatura de -20°C.

2.3 Identificação dos Isolados

Cada isolado foi submetido à análise das características macroscópicas, coloração de Gram e testes bioquímicos (Koneman; Allen, 2008). Os cocos Gram-positivos catalase positiva foram submetidos à prova da coagulase para classificação em *Staphylococcus* coagulase positiva ou *Staphylococcus* coagulase negativa. A identificação bioquímica das bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae foi realizada por meio de um conjunto de provas bioquímicas incluídos no “Kit para Enterobactérias” (NewProv®, Paraná, Brasil), segundo recomendações do fabricante.

2.4 Testes de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

Os testes de susceptibilidade aos antimicrobianos foram realizados pela metodologia de difusão em disco de ágar de acordo com os critérios estabelecidos pelo Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI, 2020; 2023) e Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2025). Colônias isoladas foram semeadas em meio BHI para o crescimento *overnight*. No dia dos experimentos o inóculo bacteriano foi padronizado de acordo com a escala 0,5 de McFarland e a suspensão bacteriana foi inoculada em placas contendo ágar Mueller Hinton com o auxílio de swab. Posteriormente os discos impregnados com antimicrobianos foram colocados e as placas incubadas (37°C/ 18-24 h). Os halos de inibição foram medidos (mm) e os resultados obtidos registrados.

Para o perfil de resistência das bactérias foram testados antibióticos escolhidos com base no CLSI (2020 e 2023) e Br-CAST (2025) e adotando o critério de escolha em decorrência a ampla utilização em tratamentos de animais de produção. Sendo para Gram positivas: amoxicilina + clavulanato (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftiofur (30 µg), ceftriaxona (30 µg), clorafenicol (30 µg), enrofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), imipenen (10 µg), clindamicina (2 µg), oxacilina (1 µg) e tetraciclina (30 µg). E para Gram negativas: amoxicilina + clavulanato (30 µg), aztreonam (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftiofur (30 µg), ceftriaxona (30 µg), clorafenicol (30 µg), enrofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), imipenen (10 µg) e tetraciclina (30 µg).

2.5 Teste Fenotípico para Detecção de Cepas Produtoras de Beta-lactamases de Espectro Estendido

Foi realizado o teste fenotípico para detecção de enterobactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) pelo teste sinérgico do duplo disco com cefotaxima (30 µg), ceftazidima (30 µg), ceftriaxona (30 µg) e aztreonam (30 µg). Os discos foram distribuídos a uma distância de 20 mm de um disco contendo amoxicilina + clavulanato (20/10 µg). Qualquer aumento ou distorção da zona de inibição de um dos antibióticos em

direção ao disco de amoxicilina + clavulanato foi considerado sugestivo da produção de ESBL (CLSI, 2023).

2.6 Identificação molecular de isolados de *Staphylococcus aureus*

A reação em cadeia pela polimerase (PCR) foi realizada para as amostras de *Staphylococcus* coagulase positivo (CoPS) para verificar os isolados de *Staphylococcus aureus*. O DNA foi extraído com o Kit Purelink Genomic DNA (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA) de acordo com as informações do fabricante e as reações serão realizadas utilizando o primer Sa442-1 (5'- AAT CTT TGT CGG TAC ACGATA TTC TTC ACG-3' e o primer Sa442-2 (5'-CGT AAT GAGATT TCA GTA GAT AAT ACA ACA-3') seguindo a metodologia de Martineau et al. (1998). Para amplificação do DNA foi utilizado o termociclador da marca AppliedBiosystems modelo Veriti™ 96-Well ThermalCycler.

A amplificação dos produtos foi visualizada por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com Gel Red (Uniscience, Osasco, São Paulo, BR) utilizando marcador molecular de 100pb e os produtos serão visualizados como uma única banda de 241pb.

2.7 Pesquisa do gene *mecA*

O DNA dos isolados de *Staphylococcus* spp. classificados como resistentes à oxacilina foram extraídos utilizando o Kit Purelink Genomic DNA (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA) de acordo com as informações do fabricante e as reações da PCR foram realizadas utilizando o primer *mecA1* (AAAATCGATGGTAAAGGTTGG) e *mecA2* (AGTTCTGCAGTACCGGATTTG) seguindo metodologia de Murakami et al., (1991). Para a amplificação do DNA foi utilizado o termociclador da marca AppliedBiosystems modelo Veriti™ 96-Well Thermal Cycler.

A amplificação dos produtos será visualizada por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com Gel Red (Uniscience, Osasco, São Paulo, BR) utilizando marcador molecular de 100pb e os produtos foram visualizados como uma única banda de 533pb.

Resultados

De 74 amostras coletadas de animais, (24 bovinos, 19 suínos, um equino e 30 aves) do Colégio Estadual Agrícola, 78,4% (58/74) dos isolados foram identificados fenotipicamente como *Staphylococcus* spp. Destes, 46,6% (27/58) foram identificados como *Staphylococcus* Coagulase Positiva, enquanto 53,4% (31/58) dos isolados foram identificados como *Staphylococcus* Coagulase Negativa. Não foi detectado isolados de *S. aureus* ao teste molecular (PCR) das amostras de *Staphylococcus* coagulase positiva.

Das amostras oriundas de bovinos, 66,67% (16/24) foram isoladas como *Staphylococcus*, sendo todas classificadas como *Staphylococcus* Coagulase Negativa, em relação aos suínos 57,89% (11/19) das amostras foram isoladas como *Staphylococcus*, sendo estas 100% Coagulase Negativa, assim como o equino, já nas aves 100% (30/30) as amostras foram isoladas para *Staphylococcus*, porém 90% (27/30) foram identificadas como coagulase positiva e 10% (3/30) como coagulase negativa (Tabela 1).

Os antibióticos que apresentaram isolados com maior porcentagem de resistência nas amostras das diferentes espécies de animais (Figura 2) foram Oxacilina com 100% (58/58) das amostras resistentes, seguidos por Clindamicina com 93,1% (54/58) e Ceftriaxona com 72,4% (42/58) dos isolados resistentes. O Imipenem e o Cloranfenicol foram os antibióticos que apresentaram a menor taxa de resistência nos isolados, observando 75,9% e 82,8% de efetividade respectivamente.

Nas amostras isoladas de bovinos, 100% (16/16) foram resistentes a Clindamicina e Oxacilina, seguidas de 87,5% (14/16) a Amoxicilina + Clavulanato e a Ceftriaxona. Os isolados de suínos obtiveram 100% (11/11) dos isolados resistentes a Oxacilina, 90,9% (10/11) a Tetraciclina e 81,8% (9/11) resistentes a Ceftriaxona. A fêmea equina por sua vez apresentou resistência a Clindamicina, a Oxacilina e a Ceftriaxona, já as aves 100% (30/30)

dos isolados apresentaram como resistente a Clindamicina e Oxacilina, além de 70% (21/30) apresentarem resistência a Tetraciclina.

Aproximadamente 93,1% (54/58) das amostras coletadas dos bovinos, suínos, equino e aves apresentaram-se como multidroga resistentes (Tabela 1).

Apenas 6,76% (5/74) das amostras coletadas de animais foram identificadas como enterobactérias. Destas, 60% (3/5) são provenientes de bovinos e 40% (2/5) de suínos. Além disso, 80% (4/5) dos isolados caracterizados como enterobactérias apresentaram-se como multidroga resistente e todos (5/5) foram identificados fenotipicamente como *Escherichia coli*. Os antibióticos que apresentaram maior porcentagem de resistência foram Aztreonam com 100% (5/5), seguido por Amoxicilina + Clavulanato e Ceftiofur, ambos com 60% (3/5) das amostras resistentes (Tabela 2, Figura 3).

Não foi observado ao teste fenotípico a detecção de enterobactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL).

4 Discussão

Os resultados obtidos demonstram a importância da pesquisa em estabelecer as prevalências de isolados de bactérias com alto potencial patogênico nas diferentes espécies de animais destinados a produção animal, que também podem oferecer riscos ao homem por meio de infecções ocupacionais, durante a exposição direta ou ainda indiretamente por meio da contaminação das instalações e equipamentos utilizados nas práticas de manejo. Estes ambientes de escolas agrícolas por sua vez assemelham aos ambientes de propriedades rurais, por possuírem a criação de diferentes categorias de animais de produção e instalações que alojam estes animais, desta forma manejando estes animais durante as rotinas diárias e nas aulas práticas.

Neste estudo pode-se observar que 78,4% das amostras de bovinos, suínos, equino e aves são *Staphylococcus* spp., sendo 46,6% coagulase positiva e 53,4% coagulase negativa.

Edward et al., (2018) obtiveram 54% das amostras isoladas em uma fazenda escola da Universidade de Agricultura na Nigéria, identificadas como *Staphylococcus* coagulase positiva, porém diferindo ao observar que apenas 21,5% das amostras foram identificadas como *Staphylococcus* coagulase negativa. As coagulases negativas podem estar associadas a infecções secundárias, causando uma série de infecções, devido a sua capacidade de colonizar e formar biofilmes que irão proteger os *Staphylococcus* o que pode contribuir para a redução da eficiência terapêutica em processo infecciosos, por este motivo é muito importante a sua identificação (Setiabudy et al., 2023).

Avaliando as espécies estudadas de forma isolada, pôde-se constatar que 66,67% dos isolados de bovinos, 57,89% dos suínos e a fêmea equina foram identificados como *Staphylococcus* coagulase positiva, já as aves de postura, 100% são também *Staphylococcus*, porém, 90% das amostras são coagulase negativa e 10% coagulase positiva, estes resultados demonstram semelhanças na identificação dos isolados entre as espécies bovinas, suínas e equina que são alojadas e suas instalações ficam muito próximas, como demonstra na Figura 1, ocorrendo o manejo destes animais pelos mesmos funcionários, o que não é observado nas aves de postura que ficam afastadas e são manejadas por outro colaborador, portanto apresentaram resultados diferentes, o que sugere uma relação direta ou indireta das prevalências por ocorrência da exposição entre estes animais ou durante o manejo.

A interação e a ocorrência de resultados semelhantes nos bovinos, suínos e equino pode estar associado devido a condução destes animais serem realizadas pelo mesmo grupo de funcionários, podendo haver a presença possivelmente de excreções e microrganismos nas mãos, vestimentas e calçados e quando não higienizados de forma adequada pode estar transferindo de uma animal ao outro através dos seres humanos, outros fatores são devido os bovinos e equino compartilharem da mesma área de pastagem e fonte de água (bebedouros), ou ainda as instalações de suínos por estarem localizados centralmente a área de UDP como

demonstra na Figura 1 e isso pode acarretar na dispersão de microrganismos (bactérias) por aerossóis e poeiras, o que foi observado por Leonart-Borón, Drab, Chrobak, (2021), onde estas partículas podem ser oriundas da higiene das instalações, ou até mesmo água residuária de higienização das pocilgas.

Edward et al., (2018) detectaram que 39,68% dos suínos de uma fazenda escola na Nigéria foram identificados como coagulase positiva e 12,07% coagulase negativa, já os bovinos 58% foram identificados como coagulase negativa e 34% coagulase positiva, assim como Santos et al., (2023) avaliando suínos jovens em creche intensiva, obteve 63,3% dos isolados identificados como *Staphylococcus* coagulase negativa e 36,67% coagulase positiva, ambos os autores não associam a identificação dos isolados ao contato entre animais, visto que não possuem semelhanças entre as espécies como neste trabalho, porém pode-se observar diferenças consideráveis entre os resultados que pode ser atribuída conforme o ambiente de estudo, manejo dos animais, tipo de criação, formas de alojamento dos animais.

Dos isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva identificados nos animais não foi observado a identificação molecular para *S. aureus*, não sendo também observado a presença de gene de resistência *mecA*. Este resultado corrobora com Borges et al., (2020), que avaliaram a característica genotípica de 31 isolados de *S. aureus* resistentes a Oxacilina e Cefoxitina de bovinos leiteiros de propriedades rurais do norte de Minas Gerais e também não foi constatado a presença de genes *mecA*, porém isso não descarta a presença de outros genes de resistência nestes animais, salientado a necessidade do monitoramento da utilização de antibióticos, adoção de medidas de controle que dificultem a disseminação destes genes, uma vez que esses podem ser transferidos por meio de recombinação genética a outras cepas e espécies bacterianas.

Em contraste Egyir et al., (2020) identificaram *Staphylococcus aureus* em 4% dos animais em Gana, assim como Santos et al., (2023) em 45,45% das amostras de suínos com

S.aureus, sugerindo que sua presença pode estar associada as condições de higiene, sistemas de criação com alta lotação, manejo das instalações ou ainda a relação da transmissão pelos seres humanos durante as rotinas de trabalho com estes animais, devido ao homem ser considerado o principal reservatório de *S. aureus* (Park, Ronholma, 2021), dispersando facilmente no ambiente por meio da respiração, espirros, tosse e devido as práticas agrícolas exigirem contato próximo e prolongado do homem e animais, podem criar condições favoráveis para transmissão de *Staphylococcus* spp. entre humanos e animais (Matuszewska et al., 2020).

Em relação ao perfil de resistência observado nos isolados de bovinos, suínos, equino e aves, obteve-se maior porcentagem a Oxacilina (100%) de amostras resistentes, seguidos por Clindamicina (93,1%) e Ceftriaxona (72,7%). Ao avaliar separadamente as diferentes espécies deste estudo, os bovinos apresentaram 100% resistentes a Clindamicina e Oxacilina, 87,5% a Amoxicilina + Clavulonato, já os suínos em 100% dos isolados foram resistentes a Oxacilina, 90,9% a Tetraciclina e 81,8% Ceftriaxona, a fêmea equina apresentou resistência a Clindamicina, Oxacilina e Ceftriaxona e as aves, 100% dos isolados apresentaram resistência a Clindamicina e Oxacilina e 70% Tetraciclina. Estes resultados demonstram uma semelhança de resistência pelos mesmos grupos farmacológicos, podendo ser em decorrência do uso comum de antibióticos com função terapêutica em processos infecciosos, através da administração por via parenteral (injetável) ou por via oral através da água e/ou ração, entre as diferentes espécies de animais, independentemente de haver ou não contato entre os animais, já que as aves ficam distantes e são conduzidas por funcionários diferentes, assemelhando apenas a circulação por estudantes durante as aulas práticas.

Alguns autores destacam perfis de resistências que se assemelham as classes de medicamentos analisadas nesta pesquisa, bem como apontam outros antibióticos resistentes, como Edward et al., (2018) que observaram 83,3% de resistência a Cloxacilina, 74,1%

Ceftazidina, Santos et al., (2023) apresentaram 100% dos isolados resistentes a Cloranfenicol, Clindamicina e Eritromicina, destacando que os *Staphylococcus* são comumente encontrados na pele e nas membranas mucosas dos mamíferos, podendo estar envolvidos em diferentes infecções em animais e humanos, tornando-se importante patógeno na elevação da resistência aos antimicrobianos (Leonart-Bóron, Drab, Chroback, 2021). As diferenças de resistências entre estes estudos podem ser devido a localização geográfica das propriedades rurais, os sistemas de criação adotados e tipo de antibióticos usados no tratamento de animais.

As amostras isoladas de *Staphylococcus* apresentaram-se em 93,1% como multidroga resistente, ou seja, resistentes a três ou mais classes de antibióticos onde diferentes autores destacam a presença de isolados multirresistentes em pesquisas com animais que possuem contato frequente com os seres humanos e podem ser destinados ao consumo humano (Edward et al., 2018; Egyir et al., 2020; Leonart-Bóron, Drab, Chroback, 2021), isso torna uma grande preocupação a saúde pública pela possível redução na eficiência terapêutica e consequentemente podendo elevar os níveis de morbi-mortalidade de humanos e animais, em decorrência da resistência, podendo ser exacerbada pelo declínio de novos agentes antimicrobianos, devido à dificuldade de encontrar novas moléculas farmacológicas que se apresentem de forma eficaz contra as infecções.

Neste trabalho, 6,76% das amostras foram identificadas como enterobactérias, todas identificadas como *Escherichia coli*. Resultados próximos a este trabalho foram detectados por Mesele et al., (2023) que encontraram 4,7% de isolados de *E. coli* em vacas lactantes na Etiópia, os autores destacam a baixa prevalência em decorrência do adequado manejo dos animais, adoção de boas práticas de higiene de instalações (onde estes animais ficam localizados em relação as demais espécies ou excreções), bem como apontando alguns fatores de risco potenciais como o tipo de piso da sala de ordenha, a limpeza ineficiente dos currais, falha na higiene das mãos dos ordenhadores e dos equipamentos utilizados podendo ser

fatores relevante e também observados durante as práticas de manejo e nas instalações dos animais do colégio agrícola analisado.

Prevalências superiores de isolados de *E.coli* quando comparados a esta pesquisa foram obtidas por Ortiz et al., (2024) no México onde obtiveram 31% dos animais positivos para *E. coli*. Estes resultados demonstram que os animais podem ser considerados reservatórios saudáveis de *E. coli*, apresentando um risco de contaminação de instalações, outros animais, ou ainda predispondo a infecção do homem. Devido à proximidade dos animais em decorrência do pouco espaço disponível no colégio, assim como o constante manejo por estudantes e funcionários, é necessário a adoção de práticas que minimizem a contaminação cruzadas, através da adoção de boas práticas de higiene, manejo adequado de dejetos, reduzindo os riscos de exposição aos estudantes que realizam aulas com possíveis animais portadores. A maioria das cepas de *E. coli* não são patogênicas, porém algumas podem ocasionar intoxicações alimentares, gerando impactos significativos em humanos e animais, comprometendo o sistema imunológico do hospedeiro ocasionando enterites, meningite, endocardite, infecções do trato urinário e septicemia (Ortiz et al., 2024).

Em 80% dos isolados identificados de *E. coli* apresentaram-se como multidroga resistente, onde 100% foram resistentes a Aztreonam e 60% a Amoxicilina + Clavulanato e Ceftiofur, outros estudos apresentam a resistência a diferentes antimicrobianos, como Oliveira et al., (2022) em hospital veterinário escola onde foi apresentado uma resistência de 53,4% a Cefalotina e 44,9% a Ampicilina, oferecendo de certa forma riscos de contaminações não somente por contato direto, mas indiretamente, sendo necessários a adoção de medidas preventivas.

A identificação de isolados multidrogas resistente estabelece uma grande preocupação com relação a redução da eficiência nos tratamentos de infecções oriundas de *E. coli* patogênicas, tornando um sério problema de saúde única, devido à escassez de alternativas de

tratamento predispondo a elevação da morbidade e mortalidade entre os animais. As variações observadas nas classes de antibacterianos resistentes pode ser devido as escolhas das classes farmacológicas para tratamento dos animais, acesso dos animais a estas drogas através de promotores de crescimento (Mesele et al., 2023).

Não foi observado ao teste fenotípico a detecção ESBL, também não sendo observado por Mwenifumbo et al., (2023) na Nova Zelândia, porém Peng et al., (2022) em granja de suínos observaram que 90,54% dos isolados houve a presença de cepas multirresistentes apresentando isolados com ESBL, oferecendo riscos de contaminação a outros animais e também aos seres humanos através da ingestão de resíduos no consumo da carne e seus subprodutos, o que pode desencadear resistência nos seres humanos, tornando desta forma um grave problema de saúde pública. Esta situação é devido a uma propensão genética muito alta de *E. coli* multirresistente de origem agrícola nos animais que poderão ser destinados ao abate e consumo humano, recebendo maior atenção aos períodos de carência dos fármacos, dosagem e uso consciente de antibióticos, o que deve ser conscientizado e instruído aos funcionários e estudantes do colégio agrícola.

Neste trabalho apesar de não ter sido detectado ESBL, a sua ocorrência em diferentes estudos sugere um risco de contaminação aos seres humanos e estes podem transmitir para as comunidades por meio de interações sociais, destacando uma preocupação na forma de utilização dos antibióticos, com base em experiências prévias, utilizando a superdosagem mesmo com orientação técnica, sem adesão ao período de carência pré abate (Dang et al., 2018). A aquisição de gene ESBL na biota intestinal desempenha um papel central na disseminação de bactérias multirresistentes entre humanos, animais e o ambiente, destacando a maior carga de resistência em países de baixa a média renda, resultantes de falta de vigilância, devido a pouca orientação sobre as forma de contágio, os efeitos gerados pela contaminação, sendo um grande fator de risco aos seres humanos que manejam animais

portadores ou consomem os produtos obtidos por meio de sua própria criação (Subramanya et al., 2021).

Na rotina do Colégio Estadual Agrícola observa-se a utilização da Oxitetraciclina, Doxiciclina, Cefotiofur, Gentamicina e Sulfametoxazol com Trimetoprima, o que pode justificar a escolhas das classes de medicamentos analisadas quanto ao perfil de resistência. Aos avaliar e comparar os fármacos utilizados no colégio agrícola, pôde-se observar que mesmo não apresentando as maiores porcentagem de resistência, nota-se uma preocupação, uma vez que apresentam elevados níveis de resistência, como Oxitetraciclina e Doxiciclina que são tetraciclina e apresentaram 69% de resistência nas amostras coletadas assim como a gentamicina com 43,1% e Cefotiofur com 37,9%. Isso demonstra a relevância desta pesquisa por apresentar perfil de resistência de fármacos não utilizados na rotina, mas podem estar associados a um histórico prévio de uso nos animais em outros ambientes, visto que alguns animais formam oriundos de doações, ou por parcerias de instituições de pesquisa (Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná - IDR-PR, podendo ser ainda por contato com outros animais através de cercas de divisas com outras instituições ou propriedades, assim como a resistência a fármacos que estão inseridos como prática, o que pode elevar significativamente a ineficiência dos tratamentos infecciosos de origem bacteriana.

A correta condução das rotinas diárias de trabalho dos funcionários e orientação dos estudantes quanto as boas práticas, que minimizam a ocorrência de transferência de microrganismos com potencial patogênico entre os animais através dos seres humanos, pelas mãos, vestimentas e calçados contaminados, reduzindo a contaminação cruzada. A contaminação cruzada é uma das principais causas de ocorrência de surtos de doenças sendo associado com práticas deficientes de higiene e o contato com superfícies contaminadas (Melo et al., 2018), onde as mãos são as maiores fontes de contágio existentes, facilitando a entrada de agentes infecciosos no organismo, acarretando danos à saúde (Costa et al., 2021).

Isso justifica a necessidade de adotar a correta higiene das mãos e calçados, antes e após o manejo dos animais, assim como ao entrar nas instalações, dispondo de pontos estratégicos para higiene das mãos, com água, sabão e álcool em gel.

Com os resultados deste trabalho, podemos notar uma grande interação entre os animais em decorrência dos arranjos de distribuição das instalações, por estarem muito próximas ou ainda devido a forma de condução dos manejos destes animais, visto que o manejo alimentar e sanitário é realizado pelo mesmo grupo de funcionários. As mudanças de comportamento dos funcionários e estudantes podem surgir efeitos significativos a médio e longo prazo, visto que poderão impactar na conscientização da forma ideal de manejo dos animais, prevenindo a ocorrência de infecções nos animais, ou ainda reduzindo os efeitos relacionados a resistência os antimicrobianos pelo uso correto e consciente destes fármacos, visto que os estudantes poderão ser disseminadores de conhecimento na vida profissional ou ainda dentro do núcleo familiar quando estes atuam na propriedade familiar.

5 Conclusão

O presente trabalho destaca a presença de isolados de *Staphylococcus* nos animais, havendo uma semelhança conforme arranjo de distribuição das instalações, proximidade das mesmas e a distribuição das atividades pelo mesmo grupo de funcionário. As avaliar o perfil de resistência os isolados apresentaram resistência aos mesmos grupos farmacológicos, podendo ser em decorrência do uso comum de classes de antibióticos nos tratamentos de doenças infecciosas, entre as diferentes espécies estudadas, já que não foi observado gene de resistência *mecA*. Somente nos bovinos e suínos foram obtidos isolados de enterobactérias, sendo estes identificados como *E. coli*, apresentando as mesmas classes de medicamentos resistentes ao *Staphylococcus*, como a Amoxicilina + Clavulonato o que demonstra a possível interação entre os animais. Esta situação gera preocupação quanto a saúde única visto a porcentagem expressiva de isolados multidrogas resistentes de *Staphylococcus* e *E. coli*.

Os resultados obtidos indicam uma necessidade de vigilância quanto a utilização de determinadas classes de medicamentos, a conscientização dos funcionários e estudantes sobre o uso indiscriminado de antibióticos que possibilitará a redução de ocorrência de novas resistências, ressaltando a necessidade da adoção de boas práticas durante o manejo dos animais, prevenindo a disseminação de patógenos.

Os resultados ressaltam a importância da formação integral do estudante para que este obtendo os conhecimentos inerentes as medidas de boas práticas, possa replicar isso em suas propriedades ou ainda através da assistência e orientação técnica.

ASPÉCTOS ÉTICOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA) da Universidade Paranaense (UNIPAR) sob protocolo 41369/2024.

AGRADECIMENTOS

A UNIPAR, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) CP 09/2023 - Bolsas de Produtividade em Pesquisa, a CAPES pela concessão da taxa escolar PROSUP e aos colaboradores do Colégio Estadual Agrícola pela colaboração constante.

REFERÊNCIAS

Borges, L. F. F., Souza, C. N., Xavier, E. D., Cruz, E. A. M., Xavier, A. R. E. O., Sanglard, D. A., Souza, G. A. D., Carvalho, C. M. C., 2020. Caracterização genotípica de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina isolados de tetos e leite bovino. **Caderno de Ciências Agrárias**, 12, 01–07.

Brcast – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. São Paulo: BrCAST, 2025.

Brun-Buisson, C., Legrand, P., Philippon, A., Montravers, F., Ansquer, M., Duval, J, 1987. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. **Lancet**, 8(2), 302-301.

Carter, M. E., Donnelly, W. J. C., Leonard, F. C., Maguire, D., Markey, B. K., Quinn, P. J., 2005. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artimed, 512p.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33. ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: CLSI, 2023.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 5. ed. CLSI supplement VET01S. Wayne, PA: CLSI, 2020.

Costa, G. O. P., Sousa, I. D. B., Ferreira, R. S. A., Oliveira, N. G. S., Toussaint, L. S. M., Rodrigues Júnior, A. F., Vieira, R. N. B., Furtado, É. Z. L., Sousa, M. M., Sousa, L. R. G., Araújo, A. O. L., Leonel, L. R. S., Tinel, O. M. R. S., Gonzalez, N. F. F., Oliveira, K. A., 2021. Talking about hygiene with school adolescents: an experience report. **Research, Society and Development**, 10(13).

Dang, S. T. T., Bortolaia, V., Tran, N. T., Le, H. Q., 2018. Dalsgaard, A. Cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolated from farm workers and pigs in northern Vietnam. **Trop Med Int Health**. 23(4), 415–424.

Egyir, B., Hadjirinb, N. F., Guptab, S., Owusua, F., Agbodzia, B., Adogla-Bessac, T., Addoa, K. K., Steggerd, M., Larsend, A. R., Holmesb, M. A., 2020. Whole-genome sequence profiling of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from livestock and farm attendants in Ghana. **J Glob Antimicrob Resist**. 22, 527-532.

Edward, K. C., Onyekachi, O. V., Owuamalam, P. O., Okoronkwo, C. N., Nnochiri, O. A., Alozie, C. E., 2018. Prevalence and antibiograma of coagulase positive *Staphylococci* isolated from farm animals in Michael Okpara University of Agriculture, Umudike, South-Eastern Nigeria. **Journal Of Pharmacy**, 8(12), 20-26.

Fursova, K., Sorokin, A., Sokolov, S., Dzhelyadin, T., Shulcheva, I., Shchannikova, M., Nikanova, D., Artem'eva, O., Zinovieva, N. Brovko, F., 2020. Virulence Factors and Phylogeny of *Staphylococcus aureus* Associated with Bovine Mastitis in Russia Based on Genome Sequences. **Front Vet Sci**. 7, 1-10.

Hooban, B., Fitzhenry, K., Cahill, N., Joyce, A., O' Connor, L., Bray, J. E., Brisse, S., Passet, V., Syed, R. A., Cormican, M., Morris, D., 2021. A Point Prevalence Survey of Antibiotic Resistance in the Irish Environment, 2018–2019. **Environ Int**. 152, 1-17.

Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Procop, G., Schreckennberger, P., Woods, G., 2012. As *Enterobacteriaceae*. In: **Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas colorido**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 209- 243.

Lenart-Borón, A., Drab, D., Chrobak, J., 2021. Microbiological aerosol, aarticulate matter concentrations and antibiotic resistant *Staphylococcus* spp. in the premises of Poland's Oldest Agricultural School. **Atmosp.** 12(934), 1-26.

Li, H., Kang, Z., Jiang, E., Song, R., Zhang, Y., Qu, G., Wang, T., Jia, H., Zhu, L., 2021. Plasma induced efficient removal of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and antibiotic resistance genes, and inhibition of gene transfer by conjugation. **J Hazard Mater.**, 419.

Martiniak, V. L., 2021. A institucionalização das escolas agrícolas no Paraná. **Revista Espaço Acadêmico**, 21(228), 5-11.

Matuszewska, M., Murray, G. G. R., Harrison, E. M., Holmes, M. A., Weinert, L. A., 2020. The evolutionary genomics of host specificity in *Staphylococcus aureus*. **Trends Microbiol.** 28(6), 465–477.

Melo, E. S., Amorim, W. R., Pinheiro, R. E. E., Corrêa, P. G. N., Carvalho, S. M. R., Santos, A. R. S. S., Barros, D. S., Oliveira, E. T. A. C., Mendes, C. A., Sousa, F. V., 2018. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: revisão. **Pubvet.** 12(10), 1-9.

Mesele, F., Leta, S., Amenu, K., Abunna, F., 2023. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in lactating cows and dairy farm environment and the antimicrobial susceptibility pattern at Adami Tulu Jido Kombolcha District, Ethiopia. **BMC Vet Res.** 19(6), 1-10.

More, S. J., 2020. European perspectives on efforts to reduce antimicrobial usage in food animal production. **Irish Veteri Jour.** 73(1), 1–12.

Mwenifumbo, M., Cookson, A. L., Zhao, S., Fayaz, A., A. Browne, S., Benschop, J., Burgess, S. A., 2023. The characterisation of antimicrobial resistant *Escherichia coli* from dairy calves. **J Med Microbiol.** 72, 1-14.

Oliveira, A. F., Arrais, B. R., Bannwart, P. F., Pinto, J. F. N., Stella, A. E., 2022. Detection of beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in a veterinary hospital environment. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** 59, 1-8.

Ortiz, Y., Cerino, B., Moreno, M., Yañez, E., Heredia, N., Dávila-Aviña, J., Quezada, T., Calle, A., García, S., 2024. Diarrheagenic *Escherichia coli* with multidrug resistance in cattle from Mexico. **J Food Prot.** 87, p. 1-7.

Park, S., Ronholma, J., 2021. *Staphylococcus aureus* in agriculture: lessons in evolution from a multispecies pathogen. **Clin Microbiol Rev.** 34(2), 1-27.

Peng, Z., Hu, Z., Li, Z., Zhang, X., Jia, C., Li, T., Dai, M., Tan, C., Xu, Z., Wu, B., Chen, H., Wang, X., 2022. Antimicrobial resistance and population genomics of multidrug-resistant *Escherichia coli* in pig farms in mainland China. **Nat Commun.** 13(1116), 1-11.

Peters, C., Dulon, M., Nienhaus, A, Schablon, A., 2019. Occupational infection risk with multidrug-resistant organisms in health personnel—a systematic review. **Int J Environ Res Public Health**. 16(11), 1-14.

Ramandinianto, S. C., Khairullah, A. R., Effendi, M. H., 2020. *MecA* gene and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from dairy farms in East Java, Indonesia. **Biodiver**. 21(8), 3562-3568.

Santos, I. C., Barbosa, L. N., Grossi, G. D., Ferreira, L. R. P., Ono, J. M., Martins, L. A., Alberton, L. R., Gonçalves, D. D., 2023. Presence of *Staphylococcus* spp. carriers of the *mecA* gene in the nasal cavity of piglets in the nursery phase. **Res Vet Sci**. 155, 51-55.

Setiabudy, M., Masyeni, D. A. P. S., Indraningrat, A. A. G., Suryawan, K., Adhiputra, I. K. A. I., Rahman, M. A. A., 2023. Biofilm formation in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus*. **Fol Med Indon**. 59(3), 222-228.

Subramanya, S. H., Bairy, I., Metok, Y., Baral, B. P., Gautam, D., Nayak, N., 2021. Detection and characterization of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* from the gut of subsistence farmers, their livestock, and the surrounding environment in rural Nepal. **Sci Rep**. 11(1), 1-13.

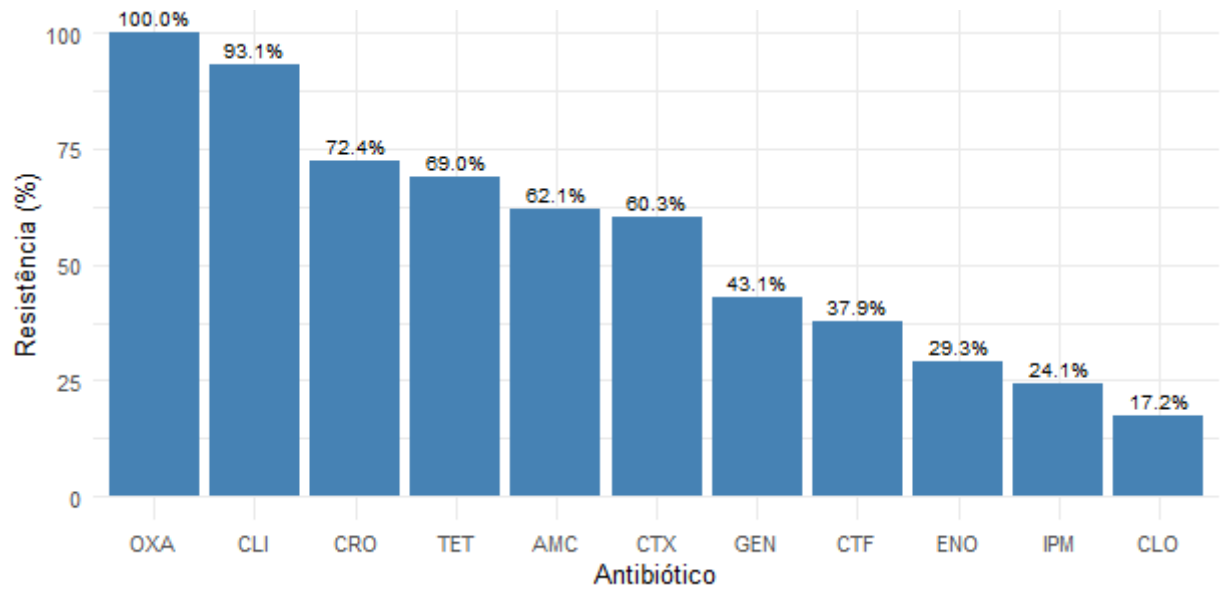
Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L., 2012. **Microbiology**. Porto Alegre: Artmed, 934p.

Figura 1. Disposição das instalações dos animais no Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.



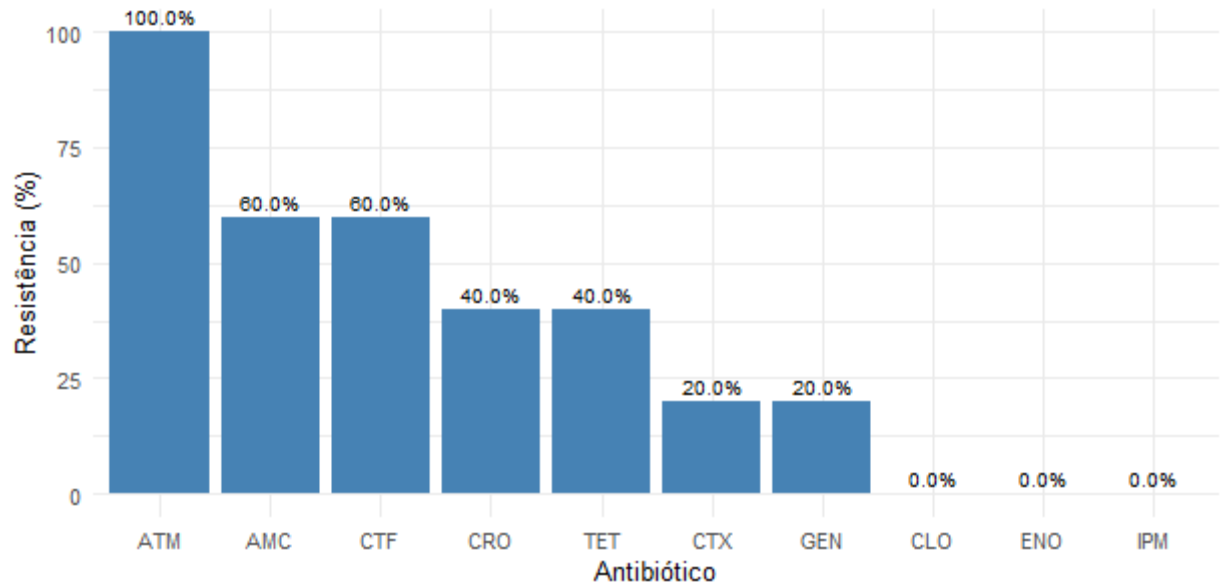
Legenda: (A- aviário (corte), B- piquete bezerreiro coletivo, C- suinocultura, D- praça de alimentação dos bovinos, E- silos trincheira, F- tanque para piscicultura, G- sala de ordenha, H- bezerreiro individual (aprisco desativado), I- produção milho, J- pastagens) – Fonte: Google Maps – Elaboração dos autores.

Figura 2. Porcentagem de isolados *Staphylococcus* spp. resistentes para cada antibiótico, coletadas de animais de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.



Legenda: AMC - Amoxicilina + Clavulanato, CLI - Clindamicina, CLO - Cloranfenicol, CRO - Ceftriaxona, CTF - Ceftiofur, CTX -Cefotaxima, ENO - Enrofloxacina, GEN - Gentamicina, IPM - Imipenem, OXA - Oxacilina, TET - Tetraciclina.

Figura 3. Porcentagem de Enterobactérias resistentes para cada antibiótico, coletadas de animais de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.



Legenda: AMC - Amoxicilina + Clavulanato, ATM - Aztreonam, CLO - Cloranfenicol, CRO - Ceftriaxona, CTF - Ceftiofur, CTX -Cefotaxima, ENO - Enrofloxacina, GEN - Gentamicina, IPM - Imipenem, TET – Tetraciclina.

Tabela 1. Perfil de resistência de isolados de *Staphylococcus* spp. em amostras de swab nasal de bovinos, suínos, equinos e aves de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.

Amostras		Antibióticos											Multidroga Resistente	Identificação	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>mecA</i>
		Penicilinas	Lincosamidas	Fenicolis	Cefalosporinas	Cefalosporinas	Cefalosporinas	Fluoroquinolonas	Aminoglicosídeos	Carbapenênicos	Penicilinas	Tetraciclina				
		AMC	CLI	CLO	CRO	CTF	CTX	ENO	GEN	IPM	OXA	TET				
1	B2	R	R	S	R	S	R	S	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
		R														
2	B3		R	S	R	S	R	S	S	S	R	S	1	CoNS	-	A
3	B6 b	R	R	S	R	R	S	S	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
4	B6 c	R	R	R	R	R	R	I	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
5	B7	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
6	B8	S	R	S	I	S	R	S	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
7	B10 a	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CoNS	-	A
8	B10 b	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	CoNS	-	A
9	B11	R	R	S	R	R	R	I	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
10	B12	R	R	S	R	R	R	I	R	R	R	S	1	CoNS	-	A
11	B13	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	S	1	CoNS	-	A
12	B15	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	0	CoNS	-	A

13	B17	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	S	1	CoNS	-	A
14	B19	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
15	B20	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	S	1	CoNS	-	A
16	B24	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	S	1	CoNS	-	A
17	Su1	S	R	S	I	S	S	I	R	R	R	R	1	CoNS	-	A
18	Su5	R	R	R	I	S	S	I	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
19	Su7	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CoNS	-	A
20	Su11	S	R	S	R	S	R	S	S	S	R	R	1	CoNS	-	A
21	Su12	S	R	S	S	S	S	I	R	S	R	S	1	CoNS	-	A
22	Su13	S	R	R	I	R	R	S	S	S	R	R	1	CoNS	-	A
23	Su14	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
24	Su15	R	S	S	R	S	R	S	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
25	Su17	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CoNS	-	A
26	Su18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	0	CoNS	-	A
27	Su19	S	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	1	CoNS	-	A
28	C	S	R	S	I	S	S	S	S	S	R	S	1	CoNS	-	A
29	Av1	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	0	CoPS	-	A
30	Av2	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
31	Av3	R	R	S	R	S	R	I	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
32	Av4	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	1	CoPS	-	A
33	Av5	R	R	S	R	S	R	S	S	S	R	S	1	CoPS	-	A
34	Av6	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	1	CoPS	-	A
35	Av7	R	R	S	R	S	R	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A

36	Av8	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	1	CoPS	-	A
37	Av9	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
38	Av10	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
39	Av11	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	CoNS	-	A
40	Av12	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
41	Av13	R	R	S	R	R	R	I	S	R	R	R	1	CoPS	-	A
42	Av14	S	R	S	S	S	R	I	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
43	Av15	R	R	S	S	S	S	I	R	R	R	R	1	CoNS	-	A
44	Av16	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
45	Av17	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
46	Av18	S	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	1	CoPS	-	A
47	Av19	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	CoPS	-	A
48	Av20	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
49	Av21	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	1	CoNS	-	A
50	Av22	R	R	S	R	S	R	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A
51	Av23	R	R	S	R	S	S	R	S	S	R	S	1	CoPS	-	A
52	Av24	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	0	CoPS	-	A
53	Av25	R	R	S	S	S	S	I	S	R	R	S	1	CoPS	-	A
54	Av26	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	1	CoPS	-	A
55	Av27	S	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R	1	CoPS	-	A

56	Av28	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	1	CoPS	-	A
57	Av29	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	1	CoPS	-	A
58	Av30	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	1	CoPS	-	A

Legenda: B - Bovino, Su - Suíno, C - Equino, Av – Ave, R – Resistente, S – Sensível, 0 – Não (Multidroga resistente), 1 – Sim (Multidroga resistente), CoNS - *Staphylococcus* Coagulase Negativo, CoPS - *Staphylococcus* Coagulase Positivo, P - Presente, A - Ausente, S. A. - *Staphylococcus aureus*. AMC - Amoxicilina + Clavulanato, CLI - Clindamicina, CLO - Cloranfenicol, CRO - Ceftriaxona, CTF - Ceftiofur, CTX -Cefotaxima, ENO - Enrofloxacina, GEN - Gentamicina, IPM - Imipenem, OXA - Oxacilina, TET - Tetraciclina.

Tabela 2. Perfil de resistência de isolados de enterobactérias em amostras de swab nasal coletadas em bovinos e suínos no Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.

Amostras		Antibióticos										Multidroga Resistente	Identificação	ESBL
		Penicilinas	Monobactâmicos	Fenicóis	Cefalosporinas	Cefalosporinas	Cefalosporinas	Fluoroquinolonas	Aminoglicosídeos	Carbapenêmicos	Tetraciclina			
		AMC	ATM	CLO	CRO	CTF	CTX	ENO	GEN	IPM	TET			
1	B5	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	0	<i>E. coli</i>	Negativo
2	B14	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	1	<i>E. coli</i>	Negativo
3	B21	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	1	<i>E. coli</i>	Negativo
4	Su3	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	1	<i>E. coli</i>	Negativo
5	Su9	S	R	S	S	R	S	S	R	S	R	1	<i>E. coli</i>	Negativo

Legenda: B - Bovino, Su - Suíno, R – Resistente, S – Sensível, 0 – Não (Multidroga resistente), 1 – Sim (Multidroga resistente), AMC - Amoxicilina + Clavulanato, ATM - Aztreonam, CLO - Cloranfenicol, CRO - Ceftriaxona, CTF - Ceftiofur, CTX -Cefotaxima, ENO - Enrofloxacina, GEN - Gentamicina, IPM - Imipenem, TET – Tetraciclina.

**RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DE *Staphylococcus* DE ESTUDANTES E
FUNCIONÁRIOS DE UM COLÉGIO ESTADUAL AGRÍCOLA.**

Artigo editado de acordo com as normas de publicação da Revista Semina: Ciências Agrárias –
ISSN 1676-546X

RESUMO

Os colégios agrícolas surgiram no Brasil a partir da necessidade da profissionalização e formação dos estudantes, introduzindo inovações no setor agropecuário através do ensino nos diferentes componentes curriculares. Os ambientes escolares além das interrelações entre os estudantes, nos diferentes acessos como sala de aula, refeitórios, sanitários e bebedouros, também ocorre o compartilhamento de espaço que são destinadas as realizações de atividade práticas, as quais acomodam diversas espécies animais que são manejados por funcionários em seus setores. Nestas condições pode favorecer a contaminação e disseminação de diversos microrganismos patogênicos. Esta pesquisa tem como objetivo identificar a presença de resistência bacteriana a diferentes antibióticos e do gene de resistência *mecA* em isolados de *Staphylococcus* spp. e de enterobactérias provenientes de estudantes e funcionários de um Colégio Estadual Agrícola localizado na região Noroeste do Estado do Paraná, Brasil. As coletas foram por meio de swab da superfície das mãos de estudantes e funcionários e os isolados foram submetidos ao teste de suscetibilidade aos antimicrobianos por difusão em disco de ágar, identificação molecular de *Staphylococcus aureus* e análise de gene *mecA* por reação em cadeia pela polimerase. Das 42 amostras, 100% foram isoladas para *Staphylococcus* spp, sendo 80% das amostras de estudantes e 83,33% dos funcionários identificados como *Staphylococcus* coagulase negativa e 20% dos estudantes e 16,67% dos funcionários identificadas como coagulase positiva. Em 11,9% dos isolados ocorreu a identificação genotípica como *Staphylococcus aureus*. A presença de gene *mecA* foi observada em 23,8% dos isolados. Ao perfil de resistência 91,7% dos isolados dos funcionários e 66,7% dos estudantes apresentaram-se como multidroga resistente, com resistência de, 83,3% a Ceftriaxona e 81% Oxacilina. Não foram isoladas enterobactérias nas amostras coletadas de estudantes e funcionários do Colégio Estadual Agrícola. Os resultados obtidos indicam a presença de *Staphylococcus* em todos os isolados observando semelhanças no perfil de resistência com maior resistência ao Aztreonam e Cefotaxima em ambos os grupos avaliados, isso pode estar associado ao uso destas classes de antibióticos nos tratamentos de doenças infecciosas, ou ainda através da transferência por genes de resistência como observado nesta pesquisa a presença de gene *mecA*. A presença de isolados multirresistentes gera uma grande preocupação quanto a saúde única, devido a ineficiências dos tratamentos e a escassez de novos fármacos antimicrobianos, portando ocorre a necessidade da adoção de boas práticas pelos estudantes e funcionários, com higiene frequente das mãos e vigilância quanto a utilização de determinadas classes de medicamentos. A formação integral do estudante visa a disseminação dos conhecimentos dentro do ambiente escolar, bem com funcionário treinados e capacitados para conduzir corretamente as boas práticas que reduzam as contaminações.

Palavras chaves: Antibióticos. Gene *mecA*. Microbiota. Saúde Única. *S. aureus*.

ABSTRACT

Agricultural schools emerged in Brazil due to the need for professionalization and training of students, introducing innovations in the agricultural sector through teaching in different curricular components. In addition to the interrelationships between students, in the different accesses such as classrooms, cafeterias, toilets and drinking fountains, school environments also share spaces that are intended for practical activities, which accommodate various animal species that are handled by employees in their sectors. These conditions can favor the contamination and dissemination of various pathogenic microorganisms. This research aims to identify the presence of bacterial resistance to different antibiotics and the *mecA* resistance gene in isolates of *Staphylococcus* spp. and enterobacteria from students and employees of a State Agricultural School located in the northwest region of the State of Paraná, Brazil. The samples were collected by swabs from the hands of students and employees, and the isolates were subjected to antimicrobial susceptibility testing by agar disk diffusion, molecular identification of *Staphylococcus aureus*, and analysis of the *mecA* gene by polymerase chain reaction. Of the 42 samples, 100% were isolated for *Staphylococcus* spp. 80% of the samples from students and 83.33% from employees were identified as coagulase-negative *Staphylococcus*, and 20% of the students and 16.67% of employees were identified as coagulase-positive. Genotypic identification as *Staphylococcus aureus* occurred in 11.9% of the isolates. The presence of the *mecA* gene was observed in 23.8% of the isolates. The resistance profile showed that 91.7% of the isolates from employees and 66.7% from students were multidrug resistant, with 83.3% to Ceftriaxone and 81% Oxacillin. No enterobacteria were isolated in the samples collected from students and employees of the State Agricultural College. The results obtained indicate the presence of *Staphylococcus* in all isolates, observing similarities in the resistance profile with greater resistance to Aztreonam and Cefotaxime in both groups evaluated. This may be associated with the use of these classes of antibiotics in the treatment of infectious diseases, or even through the transfer of resistance genes, as observed in this study, the presence of the *mecA* gene. The presence of multidrug-resistant isolates raises great concern regarding One Health, due to the inefficiencies of treatments and the scarcity of new antimicrobial drugs, therefore, there is a need for the adoption of good practices by students and employees, with frequent hand hygiene and surveillance regarding the use of certain classes of medications. The student's comprehensive training aims to disseminate knowledge within the school environment, as well as having trained and qualified staff to correctly conduct good practices that reduce contamination.

Keywords: Antibiotics. *mecA* gene. Microbiota. One Health. *S. aureus*.

INTRODUÇÃO

O Ensino Agrícola no Brasil surgiu a partir da necessidade de atender às especificidades e demandas do trabalhador do campo, com direito a uma nova profissionalização e educação, onde o trabalhador recebia as instruções necessárias para a execução de suas tarefas com o objetivo de formar profissionais para trabalhar na agricultura, introduzindo inovações no cultivo, através de novas técnicas no setor, transformando a população rural em mão de obra ativa e produtiva (Pérez, 2018).

Considerando que as escolas formam um grande núcleo de conhecimentos específicos, bem como ocorre uma constante interação entre indivíduos em diferentes meios, constata-se que a prevenção de doenças está diretamente ligada a difusão das práticas de higiene (Ramos et al., 2020), onde a agregação de crianças em escolas é estabelecido como um fator chave na transmissão de doenças infecciosas, onde os grupos de idades escolares são pouco estudados com relação a colonização de bactérias como os *Staphylococcus* e as enterobactérias (Van Tonder et al., 2023).

Os *Staphylococcus* spp. fazem parte da microbiota normal de seres humanos e animais (Pacha et al., 2021), são bactérias Gram positivas, anaeróbicos facultativos, sendo divididas em coagulase negativa e positiva (Carter et al., 2005). *S. aureus* é a espécie com maior importância, sendo um patógeno oportunista, onde as narinas são os principais nichos primários de colonização nos seres humanos (Islam et al., 2020), podendo estar associado a várias condições patológicas, devido a sua patogenicidade multifacetada, abrangendo a resistência a medicamentos antimicrobianos e a formação de biofilme (Taqqeem et al., 2024).

As enterobactérias são bastonetes Gram negativos, que podem estar presentes no trato digestivo de animais e humanos (Tortora et al., 2012), embora façam parte da microbiota comensal, várias cepas causam problemas de saúde aos humanos, onde alimentos, água contaminados, instalações rurais e fezes dos animais, têm sido consideradas as principais fontes de origem animal de *E. coli* nas infecções humanas (Mesele et al., 2023).

A resistência aos antibióticos é observada como uma ameaça a saúde humana, com elevação da mortalidade e morbidade nas afecções infecciosas em humanos e animais, sendo exacerbada pelo declínio de novos agentes antimicrobianos (Egyir et al., 2020). A presença de gene de resistência destaca-se pelo uso excessivo e indiscriminado de antibióticos, acelerando o desenvolvimento da resistência e estabelecendo nos últimos anos uma apreciação ao conceito de saúde única (Hooban et al., 2021), se tornando um problema no âmbito da saúde pública no que se aborda nas doenças transmissíveis (Peters et al., 2019). Um dos genes de resistência mais importantes em *Staphylococcus* é o gene *mecA*, que é um gene de resistência aos beta-lactâmicos (Borges et al, 2020).

Visto que se tornam constantes os contatos dos estudantes durante as aulas práticas de campo, salas de aula e outros ambientes de compartilhamento comum, assim como a presença de funcionários em todos os ambientes escolares com manejos de diferentes espécies animais, isso pode desempenhar um papel crucial no contato e com isso a transferência de microrganismos que podem desenvolver inúmeras patologias, assim como os humanos podem desempenhar um papel na transmissão, esta pesquisa tem como objetivo identificar a presença de resistência bacteriana a diferentes antibióticos e do gene de resistência *mecA* em isolados de

Staphylococcus spp. e de enterobactérias provenientes de estudantes e funcionários de um Colégio Estadual Agrícola localizado na região Noroeste do Estado do Paraná, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das amostras

Foram coletadas amostras de 30 estudantes da terceira série e 12 funcionários de um Colégio Estadual Agrícola localizado na região Noroeste do Estado do Paraná, Brasil. Este colégio possui aproximadamente 100 alunos matriculados nos três anos do ensino médio. O colégio apresenta grande importância para região por ter estudantes de diferentes municípios, muitos oriundos da área rural residindo em propriedades rurais familiares, com criações de diferentes espécies animais para subsistência ou para a agricultura familiar.

Os estudantes da terceira série foram escolhidos como amostra por possuírem maior acesso as áreas e instalações destinadas as criações de animais de produção utilizadas nas aulas práticas, devido a ementa do curso contemplar maior quantidade de componentes curriculares da área técnica nesta série/ano e estão durante um período maior de permanência no curso (três anos). Devido ao maior nível de escolaridade e idade quando comparado as demais turmas, isso facilitaria uma maior apropriação das orientações sobre a pesquisa, disseminando posteriormente aos demais alunos e funcionários, bem como logo estarão sendo encaminhados ao mercado de trabalho, onde também poderão colocar em prática todo o conhecimento adquirido durante esta pesquisa, ou seja, realçando e colocando em prática o protagonismo juvenil.

Os funcionários selecionados para participar foram aqueles que se enquadravam como sendo de campo, desenvolvendo ou não atividades com animais. As coletas foram realizadas por meio de swab estéril da superfície das mãos de cada funcionários de campo e estudantes da terceira série através de movimentos suaves e rotatórios, em seguida introduzidos no meio de transporte Stuart para posterior processamento. As amostras coletadas foram armazenadas em caixas isotérmicas e encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense, Umuarama, Paraná.

Para confiabilidade dos resultados o dia escolhido para as coletas não foi avisado previamente ao envolvidos, sendo feito no período matutino. Foram iniciadas pelas amostras dos funcionários que já estavam desempenhando suas funções nos setores a quais são designados, onde os colaboradores do setor onde possuíam a maior parte dos animais foram os últimos, sem critério pré determinado de ordem, feitos de forma aleatória. Após foram realizadas as coletas dos estudantes também sem aviso prévio e estes encontravam-se na sala de aula.

Isolamento Bacteriano

Os swabs foram introduzidos individualmente em tubos contendo 3 mL de meio Brain Heart Infusion (BHI) e incubados em estufa à 37°C por 24 horas. Após este período, as culturas obtidas foram semeadas por estriamento em placas contendo Ágar Sal Mannitol e Ágar MacConkey e incubadas a 37°C por 24 horas para isolamento de bactérias aeróbias Gram-positivas e Gram-negativas. As colônias predominantes em cada placa foram isoladas e repicadas em meio BHI, incubadas por 37°C por 24 horas e, posteriormente, estocadas em glicerol 10% sob temperatura de -20°C.

Identificação dos Isolados

Cada isolado foi submetido à análise das características macroscópicas, microrcópicas e testes bioquímicos (Koneman & Allen, 2008). Os cocos Gram-positivos catalase positiva foram submetidos à prova da coagulase para classificação em *Staphylococcus* coagulase positiva ou *Staphylococcus* coagulase negativa.

Testes de Susceptibilidade aos Antimicrobianos

Os testes de susceptibilidade aos antimicrobianos foram realizados pela metodologia de difusão em disco de ágar de acordo com os critérios estabelecidos pelo Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI, 2020; 2023) e Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2025). Colônias isoladas foram semeadas em meio BHI para o crescimento overnight. No dia dos experimentos o inóculo bacteriano foi padronizado de acordo com a escala 0,5 de McFarland e a suspensão bacteriana foi inoculada em placas contendo ágar Mueller Hinton com o auxílio de swab. Posteriormente os discos impregnados com antimicrobianos foram colocados e as placas incubadas (37°C/ 18-24 h). Os halos de inibição foram medidos (mm) e os resultados obtidos registrados.

Para o perfil de resistência das bactérias foram testados antibióticos escolhidos com base no CLSI (2020 e 2023) e Br-CAST (2025), adotando o critério de escolha em decorrência a ampla utilização em tratamentos de animais de produção. Sendo para Gram positivas: amoxicilina + clavulanato (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftiofur (30 µg), ceftriaxona (30 µg), clorafenicol (30 µg), enrofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), imipenen (10 µg), clindamicina (2 µg), oxacilina (1 µg) e tetraciclina (30 µg). E para Gram negativas: amoxicilina + clavulanato (30 µg), aztreonam (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftiofur (30 µg), ceftriaxona (30 µg), clorafenicol (30 µg), enrofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), imipenen (10 µg) e tetraciclina (30 µg).

Identificação Molecular de Isolados de *Staphylococcus aureus*

A reação em cadeia pela polimerase (PCR) foi realizada para as amostras de *Staphylococcus* coagulase positivo (CoPS) para verificar os isolados de *Staphylococcus aureus*. O DNA foi extraído com o Kit Purelink Genomic DNA (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA) de acordo com as informações do fabricante e as reações serão realizadas utilizando o primer Sa442-1 (5'- AAT CTT TGT CGG TAC ACGATA TTC TTC ACG-3' e o primer Sa442-2 (5'-CGT AAT GAGATT TCA GTA GAT AAT ACA ACA-3') seguindo a metodologia de Martineau et al. (1998). Para amplificação do DNA foi utilizado o termociclador da marca AppliedBiosystems modelo Veriti™ 96-Well ThermalCycler.

A amplificação dos produtos foi visualizada por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com Gel Red (Uniscience, Osasco, São Paulo, BR) utilizando marcador molecular de 100pb e os produtos serão visualizados como uma única banda de 241pb.

Pesquisa do Gene *mecA*

O DNA dos isolados de *Staphylococcus* spp. classificados como resistentes à oxacilina foram extraídos utilizando o Kit Purelink Genomic DNA (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA) de acordo com as informações do fabricante e as reações da PCR foram realizadas utilizando o primer *mecA*1

(AAAATCGATGGTAAAGGTTGG) e *mecA2* (AGTTCTGCAGTACCGGATTTG) seguindo metodologia de Murakami et al., (1991). Para a amplificação do DNA foi utilizado o termociclador da marca AppliedBiosystems modelo Veriti™ 96-Well Thermal Cycler.

A amplificação dos produtos será visualizada por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com Gel Red (Uniscience, Osasco, São Paulo, BR) utilizando marcador molecular de 100pb e os produtos foram visualizados como uma única banda de 533pb.

RESULTADOS

De 42 amostras coletadas, 30 de estudantes e 12 de funcionários do Colégio Estadual Agrícola, 100% (42/42) dos isolados foram identificados fenotipicamente como *Staphylococcus* spp. Destes, 81% (34/42) foram *Staphylococcus* Coagulase Negativa, enquanto 19% (8/42) dos isolados foram identificados como *Staphylococcus* Coagulase Positiva. Com relação a identificação genotípica, 11,9% (5/42) dos isolados foram identificados como *Staphylococcus aureus*, além disso 23,8% (10/42) dos isolados apresentaram o gene *mecA* (Tabela 1).

Com relação as amostras dos estudantes, 80% (24/30) dos isolados foram identificados como *Staphylococcus* coagulase negativa e 20% (6/30) coagulase positiva, bem como 10% (3/30) dos isolados foram identificados genotipicamente como *S. aureus* e 30% (9/30) das amostras isoladas apresentaram o gene *mecA*. Relacionado as amostras dos funcionários 83,3% (10/12) apresentaram isolados identificados como *Staphylococcus* coagulase negativa e 16,67% (2/12) coagulase positiva, sendo ainda 16,67% (2/10) identificados genoticamente como *S. aureus* e 8,33% (1/12) apresentaram gene de resistência *mecA*.

Os antibióticos que apresentaram isolados com maior porcentagem de resistência (Figura 1) foram Ceftriaxona com 83,3% (35/42) dos isolados resistentes, Oxacilina com 81% (34/42) e Cefotaxima com 69% (29/42) dos isolados resistentes.

Nas amostras isoladas de estudantes 80% (24/30) foram resistentes a Ceftriaxona, seguidas de 73,3% (22/30) Oxacilina e 63,3% (19/30) a Cefotaxima. Enquanto os isolados de funcionários demonstraram 100% (12/12) dos isolados resistentes a Oxacilina, 91,7% (11/12) a Ceftriaxona e 83,3% (10/12) a Amoxicilina +Clavulanato, Cefotaxima e Tetraciclina.

Em 73,8% (31/42) das amostras foi observado isolados multidroga resistente, onde 91,7% (11/12) das amostras de funcionários apresentaram-se como multidroga resistente e 66,7% (20/30) dos isolados de estudantes foram multidroga resistente.

Não foram isoladas enterobactérias nas amostras coletadas de estudantes e funcionários do Colégio Estadual Agrícola.

DISCUSSÃO

Estudantes em instituições educacionais como escolas, faculdades e universidades frequentemente interagem com colegas que podem ser colonizados por *Staphylococcus* spp, podendo ocorrer o compartilhamento de itens pessoais, ou ainda quando observado condições sanitárias abaixo do ideal, o que elevam as preocupações quanto a saúde pública, isso é alarmante porque escolas e universidades podem apresentar condições que tornam as indivíduos suscetíveis a infecções bacterianas e com isso servir como

possíveis reservatórios para a transmissão de bactérias resistentes (Taqveem et al., 2024), por isso está pesquisa possui importância ao estabelecer a consciência dos estudantes sobre a presença de microrganismos patogênicos nas superfícies de suas mãos e perfil de resistência aos antimicrobianos destes isolados, assim poderão atuar como disseminadores de conhecimentos, adotando medidas de reduzam a contaminação dentro dos ambientes do colégio agrícola, como uma abordagem instrutiva também aos funcionários, sendo estes protagonistas dentro desta instituição.

Neste estudo observa-se que 100% dos isolados obtidos de estudantes foram identificados como *Staphylococcus* spp., sendo 81% *Staphylococcus* coagulase negativa (CoNS) e 19% *Staphylococcus* coagulase positiva (CoPS), onde outros autores corroboram com esta pesquisa, porém apresentando relações diferentes entre as prevalências, como Congdon et al. (2023), que obtiveram em 500 amostras nasais de estudantes universitários 73,57% CoPS e 26,43% CoNS, assim como Hirose et al. (2022), avaliando estudantes do norte do Japão, obtiveram 46% de indivíduos com CoPS e 32% CoNS em amostras de swab nasal e da superfície das mãos. As diferentes prevalências apresentadas podem ser em decorrência do local do corpo que ocorreu a coleta como apontam Hirose et al. (2022), pois foi observado uma maior ocorrência de CoPS sendo isolados da cavidade nasal em comparação a CoNS que são isoladas de amostras oriundas da superfície das mãos, o que é observado nesta pesquisa.

Avaliando a identificação genotípica dos isolados de estudantes, 10% foram identificados como *S. aureus*, com 30% de isolados com gene de resistência *mecA*, estes resultados corroboraram com Momani et al. (2019), que avaliando estudantes na Jordania, obtiveram 41% das amostras de mãos contaminadas com um ou mais espécies bacterianas, onde 12,7% foram identificadas genotipicamente como *S. aureus*, com 56,6% dos isolados recuperados das mãos de estudantes de medicina veterinária e 24% de estudantes de biologia, assemelhando-se ao ambiente do colégio agrícola, visto que ocorrem nas rotinas de aulas práticas o contato com animais. Destaca-se que diferentes patógenos podem ser transferidos das mãos a partir de superfícies contaminadas, sendo uma das principais causas de infecções nasocomiais, causando a disseminação de bactérias multirresistentes, contribuindo para o surto de doenças infecciosas (Momani et al., 2019). Por isso a higiene correta e constante das mãos associada a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI's) adequados, como luvas, máscaras ou até mesmo vestimentas limpas e apropriadas, podem minimizar a transferência de patógenos através das superfícies das mãos e isso deve ser conduzido antes, durante e após a realização de atividades que ocorram o contato com animais ou de superfícies contaminadas.

Outros autores obtiveram resultados semelhantes como Taqveem et al (2024), avaliando estudantes de várias instituições educacionais, obtiveram que 14% dos estudantes abrigavam *S. aureus*. Entender os modos de transmissão, persistência da colonização e padrões antimicrobianos é crucial para o desenvolvimento de medidas eficazes de prevenção e controle. Onde os estudantes podem contribuir para a elaboração de medidas que poderão ser implantadas por todos os estudantes, assim como orientar os funcionários de campo, ou ainda disseminando em outros meios (municípios que residem, família e ambiente de trabalho), ou seja agindo de uma forma integrativa e social.

Em relação ao perfil de resistência observado dos isolados de estudantes, observa-se uma maior porcentagem de resistência nesta pesquisa a Ceftriaxona (80%), seguidos por Oxacilina (73,33%) e Cefotaxima (63,33%), bem como 66,7% dos isolados apresentaram-se como multidroga resistente. Outras classes de antibióticos são mencionadas como resistentes ao *S. aureus* por outros autores como Momani et al. (2019), observaram 35,7% de resistência a Clindamicina e 28,6% a Penicilina em estudantes na Jordania, bem como Congdon et al. (2023), nos Estados Unidos obtiveram 74,04% de resistência a Penicilina e 33,65% a Azitromicina.

Este dados demonstram uma grande preocupação devido a presença de múltiplas resistências, o que pode tornar um grande problema de saúde única, além dos problemas ambientais gerados em decorrência dos resíduos de antibióticos, visto que os alimentos produzidos no colégio durante as aulas práticas e pelos funcionários serão destinados grande parte para o consumo dos estudantes no refeitório, destacando ainda pela ineficiência dos tratamentos de afecções infecciosas, sendo associado ao uso indiscriminado de antimicrobianos, onde as variações segundo Momani et al. (2019), podem ser em decorrência aos critérios geográficos e extratos socioeconômicos das populações estudadas, destacando ainda o uso indevido de antibióticos por profissionais de saúde e seguindo práticas não padronizadas. Ocorre ainda a associações de fatores de risco, como a exposição a animais, compartilhamento de ambientes recreativos (Congdon et al., 2023), onde estes podem assemelhar aos ambientes de sala de aulas ou nas práticas do colégio agrícola, por possuírem fômites de alto contato, até mesmo os bebedouros.

Em relação aos funcionários do colégio agrícola nesta pesquisa, observa-se que 100% dos isolados obtidos foram identificados como *Staphylococcus* spp, sendo 83,3% *Staphylococcus* coagulase negativa (CoNS) e 16,67% *Staphylococcus* coagulase positiva (CoPS), o que se assemelham aos resultados dos estudantes, assim como na identificação genotípica dos isolados foi observado que 16,7% foram identificados como *S. aureus*, com 8,33% de isolados com gene de resistência *mecA*, porém ao analisar a identificação genotípica, demonstram uma maior ocorrência de isolados identificados como *S. aureus* e uma redução em relação a presença de gene *mecA*, quando comparado aos resultados de estudantes nesta pesquisa, estes valores podem estar associado a quantidade de indivíduos envolvidos, a faixa etária (Congdon et al., 2023), ao nível de conhecimentos em decorrência de experiências profissionais, através de orientações obtidas por profissionais ou professores durante a realização das aulas práticas ou através de professores coordenadores de unidades didáticas que oferecem orientação e atuam em conjunto com os manejos diários dos animais, onde constantemente é realizado no colégio agrícola.

Alguns autores obtiveram resultados próximos a esta pesquisa com isolados de funcionários, como Egyir et al. (2020), onde avaliaram trabalhadores em granja de suínos, obtendo 18% de isolados identificados como *S. aureus*, apresentando gene *mecA*, porém outros autores encontraram resultados bem superiores em pesquisas envolvendo profissionais que manejam animais, como Islam et al. (2020), onde avaliando 221 amostras de trabalhadores em criações de suínos, obtiveram 87% de isolados de *S. aureus*, sendo estes resistentes a metilicina, demonstrando que a exposição a longo prazo pode determinar a permanência por longos períodos no organismo dos trabalhadores, além de expor os ambientes fora das fazendas, como suas

residências e população em geral. Por isso é tão importante estabelecer medidas que previnam a contaminação de funcionários, ou até mesmo estes sejam portadores, contaminando os animais, bem como expondo os estudantes ao realizar o contato direto com os animais ou ainda nas superfícies das instalações onde ocorrem as aulas práticas.

Talim et al. (2024), obtiveram no Rio de Janeiro 25,9% de trabalhadores de fazenda de suínos, com isolados identificados como *S. aureus*, bem como Jauro et al. (2022), avaliando isolados de profissionais que possuem contato constante com animais na Nigéria, observaram 43% de isolados identificados como *S. aureus*, ou ainda Nerodova et al. (2020), destacaram que não somente fazendeiros e criadores de animais de produção podem alojar ou se contaminar com *S. aureus* ao manejar animais ou instalações, mas técnicos e outros profissionais também correm o risco de contaminação. Podemos observar que os valores obtidos nesta pesquisa se encontram abaixo dos autores citados, porém não descarta a necessidade da adoção de medidas, como higiene constante das mãos e adoção de EPI's durante as atividades práticas, juntamente com os estudantes que minimizem a contaminação cruzada.

A contaminação cruzada de microrganismos patogênicos entre humanos ou humanos e animais é uma das principais causas de ocorrência de surtos de doenças, sendo associado com práticas deficientes de higiene e o contato com superfícies contaminadas, onde as mãos são as maiores portas de contágio de patógenos existentes, facilitando a entrada de agentes infecciosos no organismo acarretando danos à saúde. Segundo Sebola et al. (2024) a higiene eficaz das mãos reduz a transmissão de infecções, porém a adesão por parte de indivíduos que manuseiam animais é baixa, aumentando os riscos de transmissão de doenças infecciosas de origem zoonótica.

O perfil de resistência dos isolados de funcionários do colégio agrícola, observa-se uma maior porcentagem de resistência nesta pesquisa é de 100% a Oxacilina, 91,7% a Ceftriaxona, seguidos por 83,33% para Amoxicilina + Clavulonato e Tetraciclina, bem como 91,7% dos isolados apresentaram-se como multidroga resistente, destacando uma maior porcentagem de classes de antibióticos resistentes nos funcionários em relação aos estudantes, isso pode estar associado ao fator de serem mais velhos, ocorrendo uma maior exposição ao longo dos anos, através da utilização de diferentes classes de antibióticos em tratamentos infecciosos. Outros autores destacam diferentes porcentagens de resistência e classes de fármacos antimicrobianos, como Egyir et al. (2020), apresentaram resistência 68% a Penicilina, 44% a Tetraciclina, em trabalhadores de suínos, assim como Jauro et al. (2022), em profissionais que manejam animais, uma resistência de 100% a Oxacilina, Cefoxitina, Oxitetraclina, Cefazolina e Penicilina G, sendo todos multidrogas resistentes.

Não foram observados isolados identificados de enterobactérias, onde a principal espécie é a *E. coli*, onde Mesele et al. (2023) destaca que a relação negativa pode ser devido às diferenças de manejo com os animais, as práticas de higiene adotadas pelos trabalhadores e estudantes, onde os animais podem ser reservatórios, portanto a detecção, identificação e determinação da resistência a antibióticos de patógenos em animais e humanos, são essenciais para garantir a segurança dos indivíduos, principalmente quando observado um ambiente que facilita a disseminação devido ao contato com animais e o compartilhamento

dos ambientes escolares, assim como no transporte dos estudantes que são oriundos de várias regiões, podendo facilmente se tornar um problema regional.

CONCLUSÃO

No presente trabalho foi observado a presença de *Staphylococcus* em todos os isolados obtidos das amostras de estudantes e funcionários, com semelhanças no perfil de resistência sendo observado uma maior resistência a Ceftriaxona e Oxacilina em ambos os grupos avaliados, isso pode estar associado ao uso destas classes de antibióticos nos tratamentos de doenças infecciosas, ou ainda através da transferência por genes de resistência como observado nesta pesquisa a presença de gene *mecA*.

A elevada presença de isolados multirresistentes a fármacos eletivos nos tratamentos de infecções geradas por *Staphylococcus* spp. gera uma grande preocupação quanto a saúde única, através da contaminação ambiental, devido a ineficiências dos tratamentos e a escassez de novos fármacos antimicrobianos, demonstrando a necessidade da adoção de boas práticas pelos estudantes e funcionários, através da higiene frequente das mãos, assim com a necessidade de vigilância quanto a utilização de determinadas classes de medicamentos.

Por isso a formação integral do estudante deve compreender a importância de sua participação como disseminador de conhecimento, iniciando dentro do ambiente escolar comum e nas dependências das aulas práticas, bem com funcionário treinados e capacitados para conduzir corretamente as boas práticas que reduzam as contaminações.

ASPÉCTOS ÉTICOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética Humano (CEP) da Universidade Paranaense (UNIPAR) sob protocolo 6.761.380

AGRADECIMENTOS

A UNIPAR, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) CP 09/2023 - Bolsas de Produtividade em Pesquisa, a CAPES pela concessão da taxa escolar PROSUP e aos colaboradores do Colégio Estadual Agrícola pela colaboração constante.

REFERÊNCIAS

Al Momani W., Khatatbeh M., & Altaany Z (2019). Antibiotic susceptibility of bacterial pathogens recovered from the hand and mobile phones of university students. *Germs*, 9(1), 9-16. doi: 10.18683/germs.2019.1152

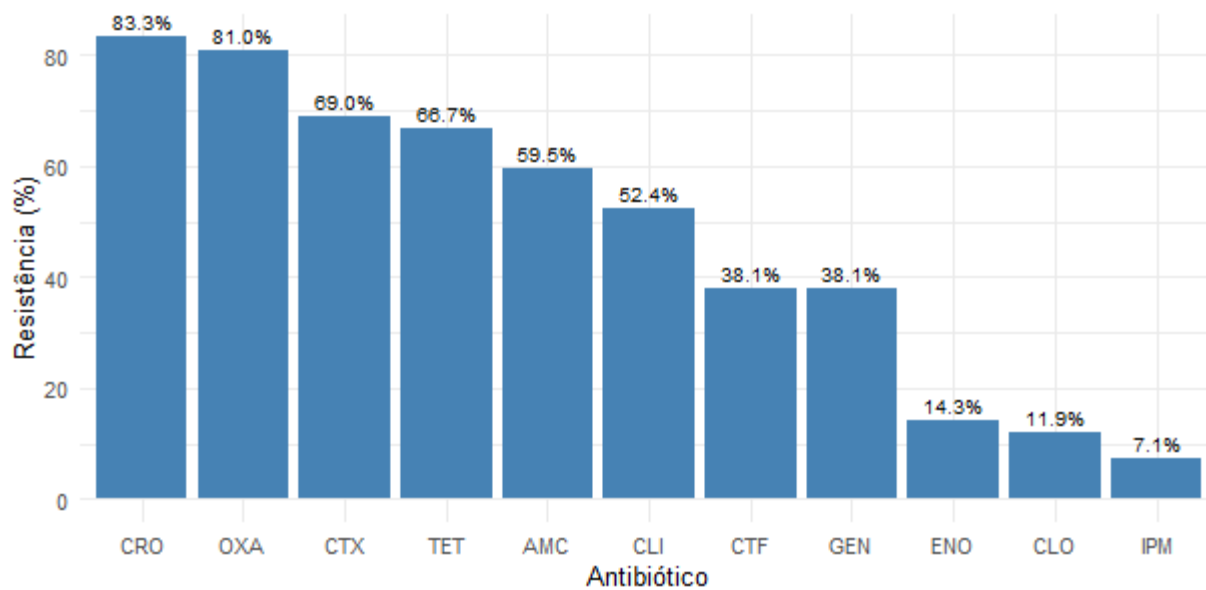
Borges, L. F. F., Souza, C. N., Xavier, E. D., Cruz, E. A. M., Xavier, A. R. E. O., Sanglard, D. A., Souza, G. A. D., & Carvalho, C. M. C. (2020). Caracterização genotípica de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina isolados de tetos e leite bovino. *Caderno de Ciências Agrárias* 12, 01-07. doi: 10.35699/2447-6218.2020.25185

BRCAST – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. São Paulo: BrCAST, 2025.

- Brun-Buisson, C., Legrand, P., Philippon, A., Montravers, F., Ansquer, M., & Duval, J. (1987). Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet*, 8(2), 302-301. doi: 10.1016/s0140-6736(87)90891-9
- Carter, M. E., Donnelly, W. J. C., Leonard, F. C., Maguire, D., Markey, B. K., & Quinn, P. J. (2005). *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Porto Alegre: Artimed, 512p.
- Congdon, S. T., Guaglione, J. A., Ricketts, O. M. A., Murphy, K. V., Anderson, M. G., Trowbridge, D. A., Al-Abduladheem, Y., Phillips, A. M., Beausoleil, A. M., Alexus J. Stanley, A. J., Becker, T. J., & Silver, A. C. (2023). Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* associated with a college-aged cohort: life-style factors that contribute to nasal carriage. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1-8. doi: 10.3389/fcimb.2023.1195758
- Egyir, B., Hadjirinb, N. F., Guptab, S., Owusua, F., Agbodzia, B., Adogla-Bessac, T., Addoa, K. K., Steggerd, M., Larsend, A. R., & Holmesb, M. A. (2020). Whole-genome sequence profiling of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from livestock and farm attendants in Ghana. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 527-532. doi: 10.1016/j.jgar.2020.03.029
- Hirose, M., Aung, M. S., Fujita, Y., Kato, T., Hirose, Y., Yahata, S., Fukuda, A., Saitoh, M., Urushibara, N., & Kobayashi, N. (2022). Genetic characterization of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus argenteus*, and coagulase-negative *Staphylococci* colonizing oral cavity and hand of healthy adults in northern Japan. *Pathogens*, 11(8), 1-14. doi: 10.3390/pathogens11080849.
- Hooban, B., Fitzhenry, K., Cahill, N., Joyce, A., O' Connor, L., Bray, J. E., Brisse, S., Passet, V., Syed, R. A., Cormican, M. & Morris, D. (2021). A Point Prevalence survey of antibiotic resistance in the Irish Environment, 2018–2019. *Environment International*, 152, 1-17. doi:10.1016/j.envint.2021. 106466.
- Islam, M. Z.; Johannesen, T. B.; Lilje, B.; Urth, T. R.; Larsen, A. R.; Angen, Ø.; & Larsen, J. (2020). Investigation of the human nasal microbiome in persons with long- and short-term exposure to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other bacteria from the pig farm environment. *PLoS One*, 15(4), 1-12. doi: 10.1371/journal.pone.0232456
- Jauro, S., Hamman, M. M., Malgwi, K. D., Musa, J. A., Ngoshe, Y. B., Gulani, I. A., Kwoji, I. D., Iliya, I., Abubakar, M. B., & Fasina, F. O. (2022). Antimicrobial resistance pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from sheep and humans in Veterinary Hospital Maiduguri, Nigeria. *Veterinary World*, 15(4), 1141-1148. doi: 10.14202/vetworld.2022.1141-1148.
- Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Procop, G., Schreckennberger, P., & Woods, G. (2012). As *Enterobacteriaceae*. In: *Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas colorido*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 209- 243.
- Mesele, F., Leta, S., Amenu, K., & Abunna, F. (2023). Occurrence of *Escherichia Coli* O157:H7 in lactating cows and dairy farm environment and the antimicrobial susceptibility pattern at Adami Tulu Jido Kombolcha District, Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, 19(6), 1-10. doi: 10.1186/s12917-023-03565-9.
- Neradova, K., Jakubu, V., Pomorska, K., & Zemlickova, H. (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in veterinary professionals in 2017 in the Czech Republic. *BMC Veterinary Research*, 16(4), 1-6. doi: 10.1186/s12917-019-2223-z.
- Pacha, P. A., Munoz, M. A., González-Rocha, G., San Martín, I., Quezada-Aguiluz, M., Aguayo-Reyes, A., Bello-Toledo, H., & Latorre, A. A. (2021). Molecular diversity of *Staphylococcus aureus* and the role of milking equipment adherences or biofilm as a source for bulk tank milk contamination. *Journal of Dairy Science*, 104(3), 3522-3531. doi: 10.3168/jds.2020-19121.

- Pérez, P. V. (2018). Educação do Campo no Centro Estadual de Educação Profissional Manoel Moreira Pena. *Pleiade*, 12(26), 144-155. doi: 10.32915/pleiade.v12i26.
- Peters, C., Dulon, M., Nienhaus, A., & Schablon, A. (2019). Occupational infection risk with multidrug-resistant organisms in health personnel—a systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(11). doi: 10.3390/ijerph1611198
- Ramos, L. S., Gomes, H. A. L. F., De Aguiar, T. C. G., Soares, R. M. S., Corrêa, M. X., Morgan, L. T. F., Mota, J. C., Mota, C. A. C., Queiroz, K. A., & Cotta, A. L. G. (2020). Instruções de higiene na escola e na sociedade como ação de saúde e prevenção de doenças: uma revisão bibliográfica. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 12(10). doi: 10.25248/reas.e4558.2020.
- Sebola, D. C., Oguttu, J. W., Malahlela, M. N., Kock, M. M., & Qekwana, D. N. (2024). Occurrence and characterization of ESKAPE organisms on the hands of veterinary students before patient contact at a veterinary academic hospital, South Africa. *BMC Veterinary Research*, 20(1). doi: 10.1186/s12917-024-04322-2.
- Talim, J., Martins, I., Messias, C., Sabino, H., Oliveira, L., Pinto, T., Albuquerque, J., Cerqueira, A., Dolores, Í., Moreira, B., Silveira, R., Neves, F., & Rabello, R. Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* colonizing pigs and farm workers in Rio de Janeiro State, Brazil: potential interspecies transmission of livestock-associated MRSA (LA-MRSA) ST398. *Antibiotics*, 13(1), 1-15. doi:10.3390/antibiotics13080767.
- Taqveem, A., Rasool, M. H., Aslam, B., Mujahid, F., Ibrar, A., Ejaz, H., Abdalla, A. E., Alruwaili, Y., Alruwaili, M., Abosalif, K., Nawaz, Z., & Khurshid, M. (2024). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among students: nasal carriage rate, contributing factors, and antimicrobial susceptibility. *Medicina (Kaunas)*, 60(10). doi: 10.3390/medicina60101590.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L. (2012). *Microbiologia*. Porto Alegre: Artmed, 934p.
- Van Tonder, A. J., Mccullagh, F., Mckeand, H., Thaw, S., Bellis, K., Raisen, C., Lay, L., Aggarwal, D., Holmes, M., Parkhill, J., Harrison, E. M., Kucharski, A., & Conlan, A. (2023). Colonization and transmission of *Staphylococcus aureus* in schools: a citizen science project. *Microbial Genomics*, 9(4), 1-12. doi: 10.1099/mgen.0.000993

Figura 1. Porcentagem das amostras resistentes para cada antibiótico, coletadas de estudantes e funcionários de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.



Legenda: AMC - Amoxicilina + Clavulanato, CLI - Clindamicina, CLO - Cloranfenicol, CRO - Ceftriaxona, CTF - Ceftiofur, CTX -Cefotaxima, ENO - Enrofloxacin, GEN - Gentamicina, IPM - Imipenem, OXA - Oxacilina, TET - Tetraciclina.

Tabela 1. Perfil de resistência de isolados de *Staphylococcus* spp. em amostras de swab das mãos de estudantes e funcionários de um Colégio Estadual Agrícola da região noroeste do Estado do Paraná, Brasil, 2024.

Amostra		Antibióticos											Multidroga Resistente	Identificação fenotípica	Identificação genotípica	
		Penicilinas	Lincosamidas	Fenicolis	Cefalosporinas	Cefalosporinas	Cefalosporinas	Fluoroquinolonas	Aminoglicosídeos	Carbapenênicos	Penicilinas	Tetraciclina			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>mecA</i>
		AMC	CLI	CLO	CRO	CTF	CTX	ENO	GEN	IPM	OXA	TET				
1	E1	S	R	S	R	S	R	S	S	S	R	S	1	CONS	-	Sim
2	E2	R	S	S	R	S	R	S	R	S	R	R	1	CONS	-	Sim
3	E3	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	1	CONS	-	Sim
4	E4	R	S	S	R	S	R	S	S	S	R	S	0	CONS	-	Sim
5	E5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	0	CONS	-	-
6	E6	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	1	CONS	-	-
7	E7	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	1	CONS	-	-
8	E8	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	0	CONS	-	-
9	E9	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	0	CONS	-	-
10	E10	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	0	CONS	-	-
11	E11	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	0	CONS	-	-
12	E12 a	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	0	CONS	-	-

13	E12 b	S	S	S	I	S	S	S	R	S	S	R	1	CONS	-	-
14	E13 a	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CONS	-	-
15	E13 b	S	R	S	I	S	S	I	R	R	R	R	1	CONS	-	-
16	E14 a	S	R	S	I	S	R	I	R	S	R	R	1	CONS	-	Sim
17	E14 b	S	R	S	S	S	R	I	S	S	R	R	1	CONS	-	-
18	E15	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	R	1	CONS	-	Sim
19	E16	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	0	CONS	-	Sim
20	E17	R	S	S	I	S	S	S	R	S	S	S	1	CONS	-	-
21	E19	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0	CONS	-	-
22	E20	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	0	COPS	Sim	-
23	E21	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	COPS	Sim	-
24	E22	R	R	S	I	S	R	S	S	S	R	S	1	COPS	-	-
25	E23	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	1	CONS	-	-
26	E24	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	1	CONS	-	-
27	E25	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	1	COPS	-	Sim
28	E26	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	R	1	COPS	-	-
29	E27	R	R	S	R	S	R	R	S	S	R	S	1	COPS	Sim	-
30	E28	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CONS	-	Sim
31	F1	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	1	COPS	Sim	-
32	F2	R	R	R	R	R	R	I	R	S	R	R	1	COPS	Sim	-
33	F3	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CONS	-	-
34	F4	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	0	CONS	-	-
35	F5	S	R	S	I	S	S	S	S	S	R	S	1	CONS	-	-
36	F6	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CONS	-	-

37	F7	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CONS	-	-
38	F8	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	1	CONS	-	-
39	F9	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	R	1	CONS	-	-
40	F10 a	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CONS	-	Sim
41	F10 b	R	S	S	R	S	R	S	R	S	R	R	1	CONS	-	-
42	F11	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	1	CONS	-	-

Legenda: E - Estudante , F - Funcionário, R – Resistente, S – Sensível, 0 – Não (Multidroga resistente), 1 – Sim (Multidroga resistente), CONS - *Staphylococcus* Coagulase Negativo, COPs - *Staphylococcus* Coagulase Positivo, P - Presente, A - Ausente, S. A. - *Staphylococcus aureus* AMC - Amoxicilina + Clavulanato, ATM - Aztreonam, CLI - Clindamicina, CLO - Cloranfenicol, CRO - Ceftriaxona, CTF - Ceftiofur, CTX -Cefotaxima, ENO - Enrofloxacin, GEN - Gentamicina, IPM - Imipenem, OXA - Oxacilina, TET - Tetraciclina.

3. CONCLUSÃO

1. O presente trabalho demonstra semelhanças nos resultados conforme arranjo de distribuição, proximidade das instalações dos animais e os manejos sendo realizados pelo mesmo grupo de funcionário, com maior perfil de resistência a Oxacilina, Clindamicina e Ceftriaxona, podendo estar associado ao uso comum de classes de antibióticos nos tratamentos de doenças infecciosas, entre as diferentes espécies estudadas, sendo ainda expressiva a ocorrência de isolados multidroga resistente. Somente nos bovinos e suínos foram isolados *E. coli*, o que demonstra a interação entre os animais. Os resultados obtidos indicam uma necessidade de vigilância quanto a utilização de determinadas classes de medicamentos, a conscientização dos funcionários e estudantes sobre o uso indiscriminado de antibióticos, reduzindo a ocorrência de novas resistências, necessidade da adoção de boas práticas durante o manejo dos animais, prevenindo a disseminação de patógenos.
2. No presente trabalho foi observado a presença de *Staphylococcus* em todos os isolados de estudantes e funcionários, observando uma maior resistência a Ceftriaxona e Oxacilina, isso pode estar associado ao uso destas classes de antibióticos nos tratamentos de doenças infecciosas, ou ainda através da transferência por genes de resistência como observado nesta pesquisa a presença de gene *mecA*. A elevada presença de isolados multirresistentes gera uma grande preocupação quanto a saúde única, através da contaminação ambiental, a ineficiências dos tratamentos e a escassez de novos fármacos antimicrobianos, demonstrando a necessidade da adoção de boas práticas pelos estudantes e funcionários, através da higiene frequente das mãos, assim com a necessidade de vigilância quanto a utilização de determinadas classes de medicamentos. Por isso a formação integral do estudante deve compreender a importância de sua participação como disseminador de conhecimento, bem com funcionários treinados e capacitados para conduzir corretamente as boas práticas que reduzam as contaminações.

4. APÊNDICES

APENDICE 1. TERMO DE CONSENTIMENTO DE ESTUDOS CONDUZIDOS COM ANIMAIS DOMÉSTICOS MANTIDOS FORA DE INSTALAÇÕES DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA

Título do projeto: Microrganismos e resistência antimicrobiana de interesse em Saúde Única em animais, alunos e funcionários de um Colégio Estadual Agrícola.

Nome do pesquisador principal: Dra. Daniela Dib Gonçalves e Leila Alves de Oliveira

Razão social e CIAEP instituição da CEUA que aprovou: Associação Paranaense de Ensino e Cultura –CIAEP

Objetivos do estudo: Analisar a microbiota e resistência antimicrobiana de diferentes espécies de animais utilizados em aulas práticas em Colégio Agrícola, no município de Umuarama, Paraná, Brasil, bem como dos funcionários e estudantes que manejam estes animais.

Procedimentos a serem realizados com os animais:

Coleta das Amostras: Serão coletadas amostras através de swab oronasal, umedecido em solução fisiológica, água destilada esterilizada ou no próprio meio de transporte, sendo introduzido na cavidade oral ou nasal do animal, comprimindo-o com movimentos rotatórios, em seguida introduzidos no meio de transporte, ou no tubo contendo o meio de enriquecimento Água Peptonada Alcalina para posterior processamento.

Potenciais riscos para os animais: nenhum. Todas as colheitas serão feitas com materiais estéreis e sem causar injúria e dor aos animais.

Cronograma: Colheita de amostras (fevereiro-maio) Processamento das amostras (fevereiro-junho); Tabulação dos resultados (fevereiro-junho).

Benefícios: Para o Colégio: Identificação de bactérias e avaliação do perfil de resistência antibacteriana de amostras de swab oronasal de animais utilizados em aulas práticas. Para a sociedade: a partir dos resultados e divulgação para a comunidade escolar, possibilitando a mudanças de hábitos e uso de estratégias de manejo para reduzir a incidência de contaminações cruzadas, bem como a identificação de bactérias com perfil de resistência ou multirresistência ao longo da cadeia produtiva.

Esclarecimentos ao proprietário sobre a participação do animal neste projeto

Sua autorização para a inclusão do (s) seu (s) animal (is) nesse estudo é voluntária. Seu (s) animal (is) poderá (ão) ser retirado (s) do estudo, a qualquer momento, sem que isso cause qualquer prejuízo a ele (s). A confidencialidade dos seus dados pessoais será preservada. Os membros da CEUA ou as autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações, e nesse caso, elas serão dirigidas especificamente para fins de inspeções regulares. O Médico Veterinário responsável pelo (s) seu (s) animal (is) será Leila Alves de Oliveira. Além dela, a equipe do Pesquisador Principal Daniela Dib Gonçalves também se responsabilizará pelo bem-estar do (s) seu (s) animal (is) durante todo o estudo e ao final dele. Quando for necessário, durante ou após o período do estudo, você poderá entrar em contato com o Pesquisador Principal ou com a sua equipe pelos contatos:

Tel. de emergência: 44 98403-0285 (Leila)

Equipe: Daniela Dib Gonçalves, Leila Alves de Oliveira.

Endereço: Praça Mascarenha de Moraes, 4282, Umuarama, Paraná.

Telefone: 44 3621-2828 ramal 1365

Declaração de consentimento

Fui devidamente esclarecido (a) sobre todos os procedimentos deste estudo, seus riscos e benefícios ao(s) animal(is) pelo(s) qual(is) sou responsável. Fui também informado que posso retirar meu(s) animal(is) do estudo a qualquer momento. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do(s) meu(s) animal(is) identificado(s), a seguir, neste projeto. Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma via ficará comigo e outra com o pesquisador.

(Umuarama/PR), ____/____/2021

Assinatura do Responsável

Assinatura do Pesquisador

Responsável:

Nome:

Documento de Identidade: (quando aplicável):

Identificação do(s) animal(is) (repetir tantas vezes quantos foram os animais)

Nome: _____ Número de identificação: _____

Espécie: _____ Raça: _____

5 ANEXOS

ANEXO 1 – Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA)



UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR

Reconhecida pela Portaria - MEC Nº 1580, DE 09/11/93 - D.O.U. 10/11/93

Mantenedora: Universidade Paranaense - UNIPAR LTDA

Coordenadoria de Pós-Graduação - COPG

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEPEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "MICRORGANISMOS E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE INTERESSE EM SAÚDE ÚNICA EM UM COLÉGIO ESTADUAL AGRÍCOLA.", protocolo 41369/2024, sob a responsabilidade de DANIELA DIB GONCALVES, - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Paranaense - UNIPAR em reunião realizada em 25/03/2024.

We hereby certify that the project "MICRORGANISMOS E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE INTERESSE EM SAÚDE ÚNICA EM UM COLÉGIO ESTADUAL AGRÍCOLA.", protocol n.41369/2024, under the responsibility of DANIELA DIB GONCALVES - involving production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (with the exception of Man), for scientific or teaching purposes - complies with Law n. 11.794, published on October 8, 2008, by Decree n. 6.899 of July 15, 2009, and with norms published by the Brazilian Council for the Control of Animal Experiments (CONCEA), and approved by the COMMITTEE FOR ETHICS IN THE USE OF ANIMALS (CEUA) of UNIPAR - Universidade Paranaense at the meeting held on 03/25/2024.

UMUARAMA - PR, 28/09/2024.

Salviano Tramontin Beletini
Presidente CEPEEA/UNIPAR

Registro Nº: 41369



UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR

Reconhecida pela Portaria - MEC Nº 1580, DE 09/11/93 - D.O.U. 10/11/93

Mantenedora: Universidade Paranaense - UNIPAR LTDA

Coordenadoria de Pós-Graduação - COPG

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEPEEA)

Vigência do Projeto / Duration of the Project	Fevereiro a Novembro de 2024
Espécie/Linhagem / Species/Pedigree	Ave** / postura
Nº de animais / N. of animals	150
Peso/Idade / Weight/Age	2kg/10 / 15 meses
Sexo / Sex	Não Definido / Undefined
Origem / Origin	Fazenda

ANEXO 2 – Parecer do Comitê de Ética Humano.

UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR 								
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP								
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA Título da Pesquisa: MICRORGANISMOS E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE INTERESSE EM SAÚDE ÚNICA EM UM COLÉGIO ESTADUAL AGRÍCOLA. Pesquisador: Daniela Dib Gonçalves Área Temática: Versão: 1 CAAE: 78191324.8.0000.0109 Instituição Proponente: Universidade Paranaense Patrocinador Principal: ASSOCIACAO PARANAENSE DE ENSINO E CULTURA								
DADOS DO PARECER Número do Parecer: 6.761.380 Apresentação do Projeto: As escolas rurais desempenham papel fundamental na formação profissional, estabelecendo a eficiência produtiva e o aperfeiçoamento dos conhecimentos através de novas técnicas, dentro de um ambiente que proporciona interação entre indivíduos em diferentes meios. Estes ambientes encontram naturalmente microrganismos que podem ocasionar infecções, sejam eles presentes na microbiota transitória de animais e seres humanos ou patogênicos. Dentre os inúmeros microrganismos destacam-se o Gênero <i>Staphylococcus</i> e as <i>Enterobactérias</i> e devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, observa-se uma grande ocorrência de resistência. O objetivo deste trabalho será analisar a microbiota e resistência antimicrobiana de diferentes espécies de animais utilizados em aulas práticas em Colégio Agrícola, no município de Umuarama, Paraná, Brasil, bem como dos funcionários e estudantes que manejam estes animais. Antes do início da realização deste projeto o mesmo será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal e Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UNIPAR. Serão coletadas amostras de swab nasal ou oral de diferentes espécies animais como suínos, bovinos e equinos e swab de cloaca de aves de corte, aves de postura, codornas, além dos swabs das mãos de funcionários e estudantes do colégio. Serão realizados como diagnóstico o isolamento bacteriano e posterior identificação dos isolados, testes de susceptibilidade aos antimicrobianos, teste fenotípico para detecção de cepas produtoras de beta-lactamases de								
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td colspan="2">Endereço: Praça Mascarenhas de Moraes, 8482, Coord. de pós-graduação- COPG nível A sala 01 / RAMAL 1219</td> </tr> <tr> <td>Bairro: Centro</td> <td>CEP: 87.502-210</td> </tr> <tr> <td>UF: PR</td> <td>Município: UMUARAMA</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (44)3621-2828</td> <td>E-mail: cep@unipar.br</td> </tr> </table>	Endereço: Praça Mascarenhas de Moraes, 8482, Coord. de pós-graduação- COPG nível A sala 01 / RAMAL 1219		Bairro: Centro	CEP: 87.502-210	UF: PR	Município: UMUARAMA	Telefone: (44)3621-2828	E-mail: cep@unipar.br
Endereço: Praça Mascarenhas de Moraes, 8482, Coord. de pós-graduação- COPG nível A sala 01 / RAMAL 1219								
Bairro: Centro	CEP: 87.502-210							
UF: PR	Município: UMUARAMA							
Telefone: (44)3621-2828	E-mail: cep@unipar.br							

UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR



Continuação do Parecer: 6.761.300

espectro estendido. Espera-se com este projeto conhecer a microbiota e perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos animais, funcionários e estudantes, além de constatar a ocorrência de possível contaminação cruzada, por meio do compartilhamento de microbiota durante os diferentes manejos. Desta forma será possível realizar ações de educação em saúde e elaboração de cartilha sobre o tema na saúde única com o intuito de contribuir para o auxílio do melhor manejo com as diferentes espécies de animais transmitindo conhecimento para os funcionários e alunos.

Objetivo da Pesquisa:

Analisar a microbiota e resistência antimicrobiana de microrganismos isolados de diferentes espécies de animais utilizados em aulas práticas em Colégio Agrícola, no município de Umuarama, Paraná, Brasil, bem como dos funcionários e estudantes que manejam estes animais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Nenhum, por ser apenas coleta de swab das mãos dos funcionários e alunos.

Benefícios:

Impacto social: Estimular convênios de instituições de ensino e pesquisa junto ao Colégio Agrícola de Educação Básica Profissionalizante, para

que este tenha maior visibilidade quanto ao enfoque em saúde única e bem-estar animal alinhado a diferentes práticas de manejo e adequação de condutas que possibilitando assim um ambiente mais salubre para os funcionários, estudantes, aos animais utilizados durante as aulas práticas,

bem como toda a comunidade. Além da possibilidade de realização de diferentes práticas de educação em saúde visando a popularização da

ciência para a comunidade, funcionários e estudantes do colégio. Devido aos estudantes serem de diferentes municípios da região, isso acarretará

no desenvolvimento regional, visto que aplicarão seus conhecimentos em pequenas propriedades familiares ou até mesmo em diferentes

estabelecimentos que atuarão profissionalmente. Impacto ambiental - Conhecer sobre os níveis de contaminação de diferentes microrganismos

presentes em animais, seres humanos e ambientes, através do compartilhamento da microbiota entre os indivíduos, bem como a susceptibilidade

aos diferentes fármacos utilizados no controle de microrganismos e a ocorrência de genes de resistência, assim atuando com medidas preventivas,

Endereço: Praça Mascarenhas de Moraes, 8482, Coord. de pós-graduação- COPG nível A sala 01 / RAMAL 1219

Bairro: Centro

CEP: 87.502-210

UF: PR

Município: UMUARAMA

Telefone: (44)3621-2828

E-mail: cpeh@unipar.br

UNIVERSIDADE PARANAENSE
- UNIPAR



Continuação do Parecer: 6.761.300

educativas e manejos, que reduzam a incidência de contaminação cruzada. Impacto científico - Também se pretende a qualificação de recursos humanos em nível de iniciação científica, mestrado e doutorado com este tema e a publicação dos resultados em revistas da área de abrangência nacional e internacional.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa se apresenta de forma conclusiva e pode ser executada, uma vez que os pesquisadores contemplaram todos os requisitos éticos para a sua realização.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE - Este documento contém as informações para o bom entendimento e anuência dos participantes da pesquisa, devendo ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa e a outra arquivada pelo pesquisador.

TERMO DE ANUÊNCIA INSTITUCIONAL - Este documento se apresenta de forma satisfatória (nome completo, função e carimbo) com a autorização pelo responsável da Instituição onde a pesquisa será realizada.

FOLHA DE ROSTO - Informações prestadas compatíveis com as do protocolo apresentado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Prezado pesquisador, vosso projeto foi aprovado sem restrições.

De acordo com o Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/2012:

O termo de consentimento livre esclarecido deve ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa, ou por seu representante legal, e uma arquivada pelo pesquisador.

Atenciosamente,

CEPEH.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2301039.pdf	13/03/2024 06:19:50		Aceito

Endereço: Praça Mescarenhas de Moraes, 8482, Coord. de pós-graduação- COPG nível A sala 01 / RAMAL 1219
Bairro: Centro CEP: 87.502-210
UF: PR Município: UMUARAMA
Telefone: (44)3621-2628 E-mail: cepeh@unipar.br

UNIVERSIDADE PARANAENSE
- UNIPAR



Continuação do Parecer: 6.761.300

Folha de Rosto	folhaderostroassinada.pdf	13/03/2024 06:19:29	Daniela Dib Gonçalves	Aceito
Outros	Questionario.pdf	09/03/2024 12:14:57	Daniela Dib Gonçalves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.pdf	09/03/2024 12:14:46	Daniela Dib Gonçalves	Aceito
Outros	TAlassinado.pdf	09/03/2024 12:12:20	Daniela Dib Gonçalves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	09/03/2024 11:29:55	Daniela Dib Gonçalves	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UMUARAMA, 12 de Abril de 2024

Assinado por:
Nelson Anderson Baspalez Corrêa
(Coordenador(a))

Endereço: Praça Mascarenhas de Moraes, 8482, Coord. de pós-graduação- COPG nível A sala 01 / RAMAL 1219
Bairro: Centro CEP: 87.502-210
UF: PR Município: UMUARAMA
Telefone: (44)3621-2828 E-mail: cpeh@unipar.br

ANEXO 3 - Normas da Revista Research in Veterinary Science

Research in Veterinary Science publishes original contributions and review articles on research concerning the health and disease of animals, including studies in comparative medicine.

Form of papers

Introduction: State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods: Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results: Results should be clear and concise.

Discussion: This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions: The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices: If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information: Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible; Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author; Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author; Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights: Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the example Highlights. Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract: A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself. Abstract, self-contained and embodying the main conclusions. It should note the relevance to veterinary science as well as the aims and objectives of the work. Sentences such as 'the results are discussed', which merely describe the paper, are not allowed.

Graphical abstract: Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 x 1328 pixels (h x w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 x 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Keywords: Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviation and symbols: Authors are asked to explain each scientific abbreviation at its first occurrence in their papers; for example, complement fixation test (CFT). The policy of the journal with respect to units and symbols is that SI (System International) symbols should be used.

Acknowledgement: All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Formatting of funding sources:

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature: 1. Authors and Editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature. Virologists should consult the latest Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses for proper nomenclature and spelling; 2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals; 3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified; 4. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

Formulae: 1. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used; 2. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line; 3. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered; 4. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of e are often more conveniently denoted by exp.; 5. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca^{2+} , not as Ca^{++} ; 6. Isotope numbers should precede the symbols, e.g. ^{18}O ; 7. The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P_2O_5).

Footnotes: Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

1. Footnotes should only be used if absolutely essential. In most cases it should be possible to incorporate the information in normal text.

2. If used, they should be numbered in the text, indicated by superscript numbers, and kept as short as possible.

Artwork: This section describes the artwork for this journal.

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.
- Embed illustrations within the manuscript file.

1. All illustrations (line drawings and photographs) must be submitted as separate files.
2. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should be made in the text to each illustration.
3. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%.
4. Lettering should be big enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible, any lettering should be in English. Use the same kind of lettering throughout and follow the style of the journal.
5. If a scale should be given, use bar scales on all illustrations instead of numerical scales that must be changed with reduction.
6. Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the illustrations should be kept to a minimum.
7. Photographs are only acceptable if they have good contrast and intensity.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Please ensure each table is submitted as a separate file. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.
2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.
3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.
4. Please ensure each table is submitted as a separate file. Tables should never be included in the text.
5. Each table should have a brief and self-explanatory title.
6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.
7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.

8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

Manuscript Formatting

Manuscripts should have numbered lines, with wide margins and double spacing, throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. Every page of the manuscripts, including the title page, references, tables, etc., should be numbered. However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

References

This section describes the references for this journal.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Preprint references

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Foster, N., Berndt, A., Lalmanach, A.C., Methner, U., Pasquali, P., Rychlik, I., Velge, P., Zhou, X., Barrow, P., 2012. Emergency and therapeutic vaccination—is stimulating innate immunity an option? *Res. Vet. Sci.* 93, 7–12.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

For reference style 2 Harvard: [dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings, which may also include software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Research elements

This journal enables you to publish research objects related to your original research -- such as data, methods, protocols, software and hardware -- as an additional paper in a Research Elements journal.

Research Elements is a suite of peer-reviewed, open access journals which make your research objects findable, accessible and reusable. Articles place research objects into context by providing detailed descriptions of objects and their application, and linking to the associated original research articles. Research Elements articles can be prepared by you, or by one of your collaborators.

During submission, you will be alerted to the opportunity to prepare and submit a manuscript to one of the Research Elements journals.

More information can be found on the Research Elements page.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

After acceptance

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent

back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Additional information

Authors can also keep track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track your accepted article" option on the journal's homepage <https://www.elsevier.com/locate/rvsc>. For privacy, information on each article is password-protected. The author should key in the "Our Reference" code (which is in the letter of acknowledgement sent by the Publisher on receipt of the accepted article) and the name of the corresponding author.

ANEXO 4 - Normas da Revista Semina: Ciências Agrárias.

Categorias dos Trabalhos

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

FIGURAS: Em APA, deve-se utilizar apenas tabelas e figuras. Sendo consideradas como figuras: gráficos, fotografias, mapas, organogramas e retratos. A identificação das figuras deve aparecer na **parte inferior**, precedida da palavra designativa, seguida de seu número de ordem de ocorrência no texto

TABELA: O título de tabela precisa ser breve, claro e explicativo. Ele deve ser colocado **acima da tabela**, no canto superior esquerdo, e logo abaixo da palavra Tabela (com a inicial maiúscula), acompanhada do número que a designa.

OBS. Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras **não forem do autor**.

PREPARAÇÃO DOS MANUSCRITOS

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; **3 à 5 pontos principais (Highlights)**; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; “Resultados e Discussão” ou “Resultados” e “Discussão”; Conclusões; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos...** *Áreas de estudo...1. Área rural...2. Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

- 1. TÍTULO DO TRABALHO:** acompanhado de sua tradução para o inglês.
- 2. ADICIONAR 3 à 5 PONTOS PRINCIPAIS (Highlights):** Consiste de 3 à 5 pontos principais do artigo que permite ao leitor uma visão dos principais resultados do manuscrito. Cada "Highlight" deve conter no máximo 85 caracteres incluindo espaçamentos.
- 3. RESUMO E PALAVRAS-CHAVE:** Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

4. INTRODUÇÃO

Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO ou "RESULTADOS e DISCUSSÃO"

Os resultados e a discussão poderão ser apresentados juntos (Capítulo único "Resultados e Discussão") ou separados (Capítulo de "Resultados" e Capítulo de "Discussão"), sendo opcional para os autores.

Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos.

7. CONCLUSÕES

Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

8. AGRADECIMENTOS

As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Deverão ser inseridas no final do artigo, um em cada página, após as referências. Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: Deverão ser inseridas no final do artigo, um em cada página, após as referências. As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos:

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha⁻¹. Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L⁻¹, e não g.L⁻¹ ou gL⁻¹.
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

9. CITAÇÕES

Informações não contempladas nestas diretrizes, consultar o [Manual APA 7ª ed.](#)

Ou [Apostila da Biblioteca Central UEL](#)

Quando nas citações, os autores estiverem fora dos parênteses, utilizar sempre “e” (português); “and” (inglês) e “y” (espanhol); para separar o penúltimo do último autor citado. O “&” é inserido sempre entre o penúltimo e último autor quando citados entre parênteses e nas referências.

Citação:

Dois Autores

Almeida e Parisi (2020, p. 379) ou (Almeida & Parisi, 2020, pp. 372-373)

Três ou mais autores

Lopes et al. (2021) ou (Lopes et al., 2021).

Exemplo: modelo de citação com um, seis ou mais autores

Figura

1

Estilo de citação no texto

Tipo de Citação	1ª citação fora do parêntese	Citações subsequentes	1ª citação dentro do parênteses	Citações subsequentes
1-2 autores	Minosso e Toso (2019)	Minosso e Toso (2019)	(Minosso & Toso, 2019)	(Minosso & Toso, 2019)
3 ou mais autores	Werner et al. (2017)	Werner et al. (2017)	(Werner et al., 2017)	(Werner et al., 2017)
Autor entidade / individual	Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia (IBICT) (2018)	IBICT (2018)	(Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia [IBICT], 2018)	(IBICT, 2018)
Organização sem abreviatura	Simply Cats (2019)	Simply Cats (2019)	(Simply Cats, 2019)	(Simply Cats, 2019)

Citação direta com supressão de parte do texto: Use reticências com cada ponto separado por espaço para indicar que o texto foi suprimido. Quando a supressão for entre duas frases, utilize quatro pontos separados por espaço.

Exemplo:

“Ao centrar-se sobre esses aspectos, da forma como o fazem, os textos privilegiam uma determinada visão de profissional, . . . calcada na análise ocupacional, e que carece de individualidade, singularidade e vida.” (Ferretti, 1997, p. 58).

“O novo conhecimento começa sempre com o indivíduo. . . . Tornar o conhecimento pessoal disponível para outros é a atividade central da empresa criadora de conhecimento.” (Nonaka, pp. 41-42)

Para incluir um acréscimo ou explicação na citação, use **colchetes**.

Exemplo:

“They are studying, from an evolutionary perspective, to what extent [children’s] play is a luxury that can be dispensed with when there are too many other competing claims on the growing brain . . .” (Hening, 2008, p. 40).

Diversos documentos do mesmo autor, publicados num mesmo ano

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

Citação de um mesmo autor com várias datas de publicação

Para citação do mesmo autor com várias datas de publicação, segue-se a ordem cronológica crescente.

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

Citação de diversos autores com o mesmo sobrenome

Devem ser incluídas as iniciais do primeiro autor em todas as citações do texto, mesmo que o ano de publicação seja diferente.

Exemplo: R. O. Silva (2010) e P. A. Silva (2016) afirmam que.....

10. REFERÊNCIAS:

Informações não contempladas nestas diretrizes, consultar o [Manual APA 7ª ed.](#)

Ou [Apostila da Biblioteca Central UEL](#).

Deverão ser listadas em ordem alfabética no final do artigo. Ter a segunda linha da referência recuada na quarta letra e alinhadas à esquerda.

OBS: TODAS AS REFERÊNCIAS DEVERÃO CONSTAR O NÚMERO DO DOI QUANDO HOVER.

Nas referências indique até **20 autores** separando o penúltimo autor com **&** antes do nome do autor final. Quando houver **21 ou mais autores**, inclua os 19 primeiros e insira reticências, em seguida inclua o último autor.

Exemplo 20 autores:

Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P.

Exemplo 21 ou mais autores

Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., ... Sobrenome, P.

Exemplos de Referências:

Artigos:

Berndt, T. J. (2002). Friendship quality and social development. *Current Directions in Psychological Science*, 11,7-10.

Adair, J. G., & Vohra, N. (2003). The explosion of knowledge, references, and citations: Psychology’s unique response to a crisis *American Psychologist*, 58(1),15–23. doi: 10.1037/0003-066X.58.1.15

Artigos Eletrônicos:

Santos, C. P., & Fernandes, D. H. von der (2007). A recuperação de serviços e seu efeito na confiança e lealdade do cliente. *RAC-Eletrônica*, 1(3), 35-51. <http://anpad.org.br/periodicos/base>

Livros

Kashdan, T., & Biswas-Diener, R. (2014). *The upside of your dark side*. Hudson Street Press.

Capítulo de Livros

Nonaka, I. (2008). A empresa criadora de conhecimento. In H. Takeuchi, & I. Nonaka (Orgs.), *Gestão do conhecimento* (Cap. 2, pp. 39-53). Bookman

Capítulo de livro (eletrônico)

Shuhua, L. (2007). The Night of Midautumn Festival. In J. S. M. Lau & H. Goldblatt (Eds.), *The Columbia Anthology of Modern Chinese Literature* (pp. 95-102). Columbia University Press. <https://www.worldcat.org/title/columbia-anthology-of-modern-chinese-literature/oclc/>

Anais/Proceedings

Leite, B. M. B. (2012, Setembro 3-6). Mezinhas Antigas e Modernas: a invenção da Triaga Brasília pelos Jesuítas do Colégio da Bahia no Período Colonial. In Sociedade Brasileira de História da Ciência, *Anais eletrônicos [Anais]*. 13º Seminário Nacional de História da Ciência e da Tecnologia, São Paulo, Brasil.

Tese e dissertação

Leon, M. E. (1998). *Uma análise de redes de cooperação das pequenas e médias empresas do setor das telecomunicações* [Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil].

Ficht, N. (2020). *A informação e sua representação conceitual no domínio da arquivologia e da biblioteconomia no Brasil* [Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Londrina]. Biblioteca Digital. <http://www.bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000233096>

Documentos da Internet

Organização Pan-Americana da Saúde. (2020, Dezembro 9). *OMS revela principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo entre 2000 e 2019*. <https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2020-oms-revela-principais-causas-morte-e-incapacidade-em-todo-mundo-entre-2000-e>

Ricardo, A. (2021, Dezembro 14). *Cansaço mental? Saiba o que fazer para o seu cérebro relaxar*. Metrópoles. <https://www.metroplites.com/saude/cansaco-mental-saiba-o-que-fazer-para-o-seu-cerebro-relaxar>

Leis, decretos, portarias e documentos governamentais

Lei n. 11.638, de 28 de setembro de 2007. Altera e revoga dispositivos da Lei n. 6.404, de 15 de dezembro de 1976, e da Lei n. 6.385, de 7 de dezembro de 1976, e estende às sociedades de grande porte disposições relativas à elaboração e divulgação de demonstrações financeiras. http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/111638.htm

Decreto Lei nº 238/98 de 1 de Agosto. *Diário da República nº 176/98 – I Série A*. Ministério do Ambiente. Lisboa.

Constituição da República Federativa do Brasil de 1988. (1998). Brasília. http://www.planalto.gov.br/CCIVIL_03/Constituicao/Constitui%7ao.htm

Portaria nº 809/90 de 10 de Setembro. *Diário da República nº 209/90 – I Série*. Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação, da Saúde e do Ambiente e Recursos Naturais.

Ministério da Saúde (BR). (2004). *Sistema de monitoramento de indicadores Programa Nacional de DST e Aids*. <http://www.aids.gov.br/9>

A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.