UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA
ÁREA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Resistência aos compostos de amônio quaternário (QACs) de uso doméstico e hospitalar em patógenos prioritários multirresistentes

Maria Elena Espinoza Muñoz

Dissertação para obtenção do Título de MESTRE

Orientador: Prof. Dr. Nilton Erbet Lincopan Huenuman

São Paulo

2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA
ÁREA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Resistência aos compostos de amônio quaternário (QACs) de uso doméstico e hospitalar em patógenos prioritários multirresistentes

Maria Elena Espinoza Munoz

Versão corrigida da Dissertação conforme resolução CoPGr 6018.

Dissertação para obtenção do Título de MESTRE

Orientadora: Prof. Dr. Nilton Erbet Lincopan Huenuman

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

E64r Espinoza Muñoz, Maria Elena
Resistência aos compostos de amônio quaternário (QACs)
de uso doméstico e hospitalar em patógenos prioritários
multirresistentes. / Maria Elena Espinoza Muñoz. -- São
Paulo, 2019.
79p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises
Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Lincopan Huenuman, Nilton Erbet

1. Diagnóstico de laboratório: Medicina 2. Análise Clínica: Resistência
bacteriana aos QACs I. T. II. Lincopan Huenuman, Nilton Erbet

616.0756-9 CDD

Maria Elena Espinoza Muñoz

Resistência aos compostos de amônio quaternário (QACs) de uso
doméstico e hospitalar em patógenos prioritários multirresistentes

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de MESTRE

Prof. Dr. Nilton Erbet Lincopan Huenuman
orientador/presidente

Prof. Dr. Jorge Luiz Mello Sampaio
1o. examinador

Prof. Dr. Rodrigo Caiô da Silva
2o. examinador

Profa. Dra. Doroti de Oliveira Garcia
3o. examinador

São Paulo, 10 de maio de 2019

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço à Deus, pela saúde, pelo sustento nos momentos de fraqueza pela guia e proteção nesta etapa da minha vida e por cuidar sempre de min.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Departamento de Fisiopatologia e Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, pela bolsa de estudo.

À minha amada avô Francisca Espinoza, que Deus tenha em glória, por ter me transmitido muitos valores e lições de vida que ficaram selados no meu coração

Aos meus queridos pais, Luis Espinoza, Eufroonia Muñoz, aos demais membros da minha família, Karina, Deysi, Carla, Claudia, Silvério, Juan, Roger, aos meus sobrinhos Juliana, Mariana e Luis pelos conselhos, pelo apoio e pelo amor infinito que me presentearam nos momentos mais difíceis desta etapa que me foram transmitidas à distância.

Ao meu orientador, professor Nilton Lincopan, pela oportunidade, pela confiança depositada em mim pela paciência, pelos ensinamentos, e pela orientação.

À Dra. Vanessa, pela paciência, pela contribuição e na realização do presente trabalho de pesquisa, no delineamento dos experimentos, pelo conhecimento compartilhado, pela correção da minha qualificação até a etapa final e principalmente pela amizade genuína nestes últimos dois anos.

Aos membros da minha banca de qualificação Prof. Jorge Sampaio, Dra. Doroti Garcia e Dra. Milena Dropa, pelas sugestões construtivas para melhorar o trabalho.

À Carol, pela amizade e disposição em ajudar na correção do português deste trabalho

À Louise, pelas montagens dos genomas das cepas utilizadas deste estudo e pelo apoio nas aulas de inglês

À Miriam, Quezia, Fabio, pela parceria nos trabalhos, pelos momentos de trocas de ideias pela contribuição no delineamento dos experimentos para este trabalho, pelos conhecimentos compartilhados, pela amizade e companheirismo.

Aos meus colegas Danny, Andrey, Brenda, Fernanda, pela colaboração, com os detalhes finais da formatação da minha dissertação e pelo apoio e companheirismo.

À Miriam, Quezia, Daniel, Luciana, Luana, Fabio, Ralf, José, Meire, Andres, Jose, Levi, Ana Gales, Helena, Mara, Louise e Tatiane, que cederam as cepas para realização do presente trabalho.

Ao meu namorado Luciano, por estar pendente de mim em todos os momentos bons e difíceis nesta etapa da minha vida, pelo amor e compreensão, principalmente por sacrificar muitas coisas para preservar nossa relação à distância

Aos membros da Igreja Batista- BRAS, especialmente ao pastor Paulo, Augusta, Roberta, Adriano e Lupita que sempre estiveram me apoiando, ajudando nos momentos mais difíceis, compartilhando bons momentos e torcendo por mim desde que cheguei no Brasil.

As todas as demais pessoas que conheci no Brasil, principalmente à Lucia, Bruno, Aline, Solange, Suelen pelo apoio incondicional nesta etapa.

Dedicatória

Dedico este trabalho com muito carinho aos meus pais, Luis e Eufronia Muñoz, aos demais membros da minha família e a minha avó Francisca que sempre me guia desde o céu.por estar sempre presentes, me encorajando para seguir em frente pelo incentivo apesar das dificuldades que atravessei nesta etapa. Obrigada pelo exemplo de carter e pelo amor genuíno.

RESUMO

ESPINOZA MUÑOZ, M. E. Resistência aos compostos de amônio quaternário (QACs) de uso doméstico e hospitalar em patógenos prioritários multirresistentes. 2019. Dissertação (Mestrado) -Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019

Compostos de amônio quaternário (QACs) têm sido amplamente utilizados como desinfetantes e antissépticos, sendo essenciais na prevenção e controle de infecções bacterianas na medicina humana e veterinária. Embora patógenos prioritários multirresistentes têm sido muito bem caracterizados quanto ao perfil de suscetibilidade e contexto genético da resistência aos antibióticos, dados de resistência aos QACs são limitados. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade *in vitro* dos QACs de uso doméstico e hospitalar [cloreto de benzalcônio (BAC), cloreto de cetilpiridínio (CPC) e brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB)], contra patógenos prioritários multirresistentes, identificando os principais genes de resistência associados. Foram estudadas 100 cepas multirresistentes — previamente sequenciados usando as plataformas Illumina MiSeq e NextSeq — representativas de diferentes hospedeiros (humanos e animais) e fontes (ambientes e alimentos). As cepas foram identificadas como *Klebsiella pneumoniae* (n= 24), *Escherichia coli* (n= 30); *Pseudomonas aeruginosa* (n= 10), *Enterobacter* spp, (n= 8), *Acinetobacter baumannii* (n= 11) e *Salmonella* spp. (n= 17). Genes de resistência aos QACs foram identificados *in silico* através do alinhamento dos *contigs* obtidos de cada cepa sequenciada com genes de referência obtidos do GenBank, utilizando o programa Geneious versão 8 (Biomatters Ltd). A identidade de cada gene foi analisada utilizando o programa BLASTx, no qual um critério baseado em $\geq 90\%$ identidade resultou na identificação dos genes *mdfA* (77%), *qacE* (44%), *qacEAI* (43%), *sugE(c)* (29%), *emrE* (21%), *qacA* (19%), *sugE(p)* (5%), *qacF* (7%), *qacH* (7%) e *qacL* (7%) em 85 cepas; enquanto que 15 cepas não possuíam nenhum gene de resistência aos QACs. A concentração inibitória mínima (CIM) dos QACs para as 100 cepas foi determinada pelo método de microdiluição em caldo. Os resultados sugeriram que a resistência em patógenos prioritários circulando na interface humano-ambiente-animal não é restrita aos antibióticos, uma vez que a elevada ocorrência de genes *qacE*, *qacEAI* e *mdfA* poderia estar associada com uma redução da suscetibilidade para QACs. Consequentemente, a resistência aos QACs poderia também contribuir para a persistência e adaptação destes patógenos nos seres humanos e outros animais, assim como em ambientes impactados antropogenicamente.

Palavras chave: resistência, patógenos prioritários, compostos de amônio quaternário, genes QAC, CIMs.

ABSTRACT

ESPINOZA MUÑOZ, M. E. Resistance to quaternary ammonium compounds (QACs) for domestic and hospital use in multiresistant priority pathogens 2019. Dissertação (Mestrado) -Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Quaternary ammonium compounds (QACs) have been widely used as disinfectants and antiseptics, being applied as essential compounds in the prevention and control of bacterial infections in human-and veterinary hospital medicine. Although multiresistant priority pathogens have been well characterized with respect to their susceptibility profile and their genetic context of resistance for antibiotics, studies of resistance to QACs are limited. Thus, the objective of the present study was to evaluate the *in vitro* activity of QACs [(benzalkonium chloride (BAC), cetylpyridinium chloride (CPC) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)] for household and hospital use against multiresistant priority pathogens, identifying the main resistance genes associated. A hundred multiresistant isolates (previously sequenced using the Illumina MiSeq and NextSeq platforms), representative of different hosts (humans and animals) and sources (environment and food) were studied. Isolates were identified as *Klebsiella pneumoniae* (n=24), *Escherichia coli* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=10), *Enterobacter* spp. (n=8), *Acinetobacter baumannii* (n=11) and *Salmonella* spp. (n=17). *In silico* analysis for identification of genes conferring resistance to QACs were performed by aligning the contigs obtained from the strains with reference genes deposited in GenBank, using the Geneious version program (Biomatters Ltd). Similarities were analyzed using the BLASTx online program, considering the alignment criteria based on $\geq 90\%$ identity. The result of these analysis revealed the presence of the following QAC genes: *mdfA* (77%), *qacE* (44%), *qacEΔ1* (43%), *sugE(c)* (29%), *emrE* (21%), *qacA* (19%), *sugE(p)* (5%), *qacF* (7%), *qacH* (7%) e *qacL* (7%); while 15 strains showed no resistance genes for QACs. Determination of QACs minimum inhibitory concentration (MIC) for the 100 isolates, by the broth microdilution method. These results suggest that resistance to QACs in priority pathogens, circulating at the human-environment-animal interface, is not restricted to antibiotics, since the high occurrence of genes *qacE*, *qacEΔ1* and *mdfA* were associated with a reduced susceptibility to QACs. Consequently, resistance to QACs could also contribute to the persistence and adaptation of these pathogens in humans and othes animals, as well as in anthropogenically impacted environments.

Keywords: resistance, priority pathogens, quaternary ammonium compounds, QAC genes, MIC

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura geral dos compostos QACs	19
Figura 2. Estrutura química do cloreto de benzalcônio	20
Figura 3. Estrutura química do cloreto de cetilpiridínio	21
Figura 4. Estrutura química do brometo de cetiltrimetilamônio.....	22
Figura 5. Mecanismos de ação dos QACs contra bactérias	23
Figura 6. Mecanismo de resistência dos QACs conferidos pelo sistema QacA/R.....	25

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Características epidemiológicas e genótipos de resistência aos antimicrobianos das cepas selecionadas para este estudo.....	32
Quadro 2. Genes de referência dos QACs obtidos do GenBank e numeros de acesso dos genomas.....	44
Tabela 1. Cepas controle selecionadas para o presente estudo e numeros de acesso dos genomas obtidos do GenBank.....	40
Tabela 2. Sequências dos <i>primers</i> utilizados neste estudo, temperatura de anelamento e tamanho dos fragmentos obtidos.....	46
Tabela 3. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) de QACs, em triplicata, para as cepas controle utilizando o método de diluição em ágar.....	48
Tabela 4. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) de QACs, em triplicata para cepas controle utilizando o método de microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACS <i>in silico</i> e pela técnica de PCR.....	49
Tabela 5. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs <i>in silico</i> e PCR encontradas para as cepas de <i>K. pneumoniae</i>	51
Tabela 5.1. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$), e genes de resistência aos QACs, da cepa controle ATCC	51
Tabela 6. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs <i>in silico</i> e PCR das cepas de <i>E. coli</i>	53
Tabela 6.1. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$), e genes de resistência aos QACs, das cepas controle.....	53
Tabela 7. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs <i>in silico</i> e PCR das cepas de <i>Enterobacter</i> spp.....	55
Tabela 7.1. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$), e genes de resistência aos QACs, da cepa controle ATCC.....	55
Tabela 8. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs <i>in silico</i> e PCR das cepas de <i>Pseudomonas</i> spp.....	57

Tabela 8.1. Concentração inibitória mínima CIM (µg/ml), e genes de resistência aos QACs, das cepas controle.....	57
Tabela 9. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM (µg/ml) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs <i>in silico</i> e PCR das cepas de <i>Salmonella</i> spp.....	59
Tabela 9.1. Concentração inibitória mínima CIM (µg/ml), e genes de resistência aos QACs, das cepas controle.....	59
Tabela 10. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM (µg/ml) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs <i>in silico</i> e PCR das cepas de <i>Acinetobacater baumannii</i>	61
Tabela 10.1. Concentração inibitória mínima CIM (µg/ml) e genes de resistência aos QACs da cepa controle.....	61
Tabela 11. Concentração inibitória mínima CIM 90% e CIM50% (µg/ml) dos QACs, por microdiluição em caldo, das 100 cepas avaliadas por especie.....	62
Tabela 12. . Resultados de distribuição de genes de resitência aos QACs, identificados <i>in silico</i> /PCR das 100 cepas.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC	Transportadores De Cassete De Ligação Ao ATP (do inglês, ATP Binding Cassette)
ADBAC	Cloreto De Alquil-Benzil-Dimetilamônio (do Inglês, Alkyldimethylbenzylammonium Chloride)
AM	Amazonas
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemist</i>
AR	Araucania
ARG	Argentina
ATBs	Antibióticos
ATCC	<i>American Type Culture Colletion</i>
ATP	Adenosina Trifosfato
BAC	Cloreto De Benzalcônio (do inglês, <i>Benzalkonium Chloride</i>)
BHI	Infusão Cérebro-Coração (do inglês, Brain Heart Infusion)
BI	Biobio
BO	Bolívia
BR	Brasil
CB	Cochabamba
CC	Complexo Clonal
CH	Chile
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CO	Coquimbo
COB	Cobertura
CPC	Cloreto De Cetilpiridínio (do inglês, Cetylpyridinium Chloride)
CTAB	Brometo De Cetiltrimetilamônio (do inglês, Cetyltrimethylammonium Bromide)
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (do inglês <i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
ESBL	Beta-Lactamase De Espectro Estendido (do inglês <i>Extended-Spectrum Beta-Lactamase</i>)
FPP	Força Motriz De Prótons
ID	Identidade
LI	Lima
MATE	Proteínas De Expulsão De Múltiplos Compostos Tóxicos (do inglês, Multidrug And Toxic Compound Extrusion)
MCR-1	Fosfoetanolamina Transferase

MDR	Multirresistência (do inglês <i>Multidrug-Resistant</i>)
MFS	Grande Superfamília De Facilitadores Principal (do inglês, Major Facilitator Superfamily)
MS	Mato Grosso Do Sul
NB	Ñuble
OMS	Organização Mundial da Saúde
OS	Osorno
PB	Paraíba
PCR	Reação Em Cadeia Da Polimerase (do inglês, Polymerase Chain Reaction)
PE	Perú
PR	Paraná
QACs	Compostos De Amônio Quaternário (do inglês, <i>Quaternary Ammonium Compounds</i>)
RJ	Rio De Janeiro
RN	Rio Grande Do Norte
RND	Resistência-Nodulação-Divisão (do inglês, Resistance Nodulation Division)
SAN	Santiago
SC	Santa Catarina
SMR	Transportadores De Metabólitos De Fármacos (do inglês, Small Multidrug Resistance)
ST	Sequência Tipo (do inglês Sequence Type)
VA	Valparaíso
SN	<i>Singlet</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
H	Hora(s)
mL	Mililitro(s)
Min	Minuto(s)
Nº	Número
Pb	Pares De Bases
Rpm	Rotações Por Minuto
S	Segundo(s)
U	Unidade de Atividade Enzimática
µg	Micrograma(s)
µl	Microlitro(s)
µM	Micromolar
>	Maior
%	Porcentagem

INDICE

1.	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	Estrutura geral dos compostos de amônio quaternário (QACs).....	18
1.1.2	Cloreto de benzalcônio (BAC).....	19
1.1.3	Cloreto de cetilpiridínio (CPC).....	20
1.1.4	Brometo de cetiltrimetilamônio (Cetrimida).....	21
1.2	Mecanismo de ação	22
1.3	Mecanismos de resistência aos QACs.....	23
1.4.	Caracterização molecular dos genes de resistência aos (QACs).....	25
1.5	Metodologias para teste de biocidas.....	26
1.6	Bactérias multirresistentes.....	27
2.	OBJETIVOS.....	30
2.1	Objetivo geral.....	30
2.2	Objetivos específicos.....	30
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1	Cepas bacterianas.....	31
3.1.1	Recuperação das cepas.....	40
3.1.2	Determinação da CIM (concentração inibitória mínima)	40
3.1.3	Preparo das soluções estoque dos compostos de amônio quaternário (QACs)	41
3.1.4	Diluição em agar.....	41
3.1.5	Microdiluição em caldo.....	42
3.1.6	Calculo de CIM90 e CIM50 das 100 cepas	43
3.1.7	Identificação <i>in silico</i> dos genes QACs.....	43
3.1.8	Extração de DNA.....	44
3.1.9	Padronização das reações de PCR para QACs.....	45
3.1.10	Sequências de <i>primers</i> para dentificação dos genes qac.....	45
4.	RESULTADOS.....	47
4.1	Padronização de métodos de suscetibilidade para avaliação de QACs.....	47
4.2	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	50
4.3	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>Escherichia coli</i>	52

4.4	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>Enterobacter spp.</i>	54
4.5	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>Pseudomonas spp.</i>	56
4.6	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>Salmonella spp.</i>	58
4.7	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>Acinetobacter baumannii</i>	60
4.8	Análise da concentração inibitória mínima CIM ₉₀ e CIM ₅₀ dos QACs para todas as espécies estudadas.....	62
4.9	Genótipos de resistência distribuídos em todas as espécies estudadas.....	63
5.	DISCUSSÃO	65
5.1	Padronização de métodos de suscetibilidade para avaliação de QACs.....	66
5.2	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>K. pneumoniae</i>	66
5.3	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>E. coli</i>	67
5.4	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>Pseudomonas spp.</i>	68
5.5	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>Salmonella spp.</i>	69
5.6	Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de <i>Acinetobacter baumannii</i>	70
6.	CONCLUSÃO	72
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1. INTRODUÇÃO

No começo do século XX pesquisas envolvendo os compostos de amônio quaternário (QACs) foram direcionadas para a sua utilização como antimicrobianos de superfície e desinfecção de equipamento hospitalar (MERIANOS et al., 1991). A atividade antimicrobiana desses compostos foi reportada pela primeira vez em 1916 em um estudo que demonstrou a atividade bactericida de QACs benzilados e acilados de hexametenotetramina (JACOBS, 1916; HEGSTAD et al., 2010). Em 1935, Domak publicou um estudo sobre as propriedades germicidas dos sais de amônio quaternário, contendo pelo menos uma cadeia lateral longa alifática de 8-18 átomos de carbono, os quais apresentaram atividade antibacteriana. Após esse relato, os QACs foram introduzidos na clínica médica para lavagem das mãos, desinfecção pré-operatória da pele íntegra, aplicação a membranas mucosas e desinfecção de superfícies não críticas (MCDONNELL et al., 2001).

A liberação dos QACs como compostos antimicrobianos iniciou-se na década de 1930. Em 1947, a agência de proteção ambiental dos Estados Unidos aprovou oficialmente o primeiro composto de amônio quaternário, para uso em formulações desinfetantes e antissépticas, denominado cloreto de alquil-benzil-dimetilamônio, ou cloreto de benzalcônio (ADBAC ou agrupação BAC). Em seguida, foram aprovados o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) e o cloreto de cetilpiridínio (CPC). Desde a sua introdução no mercado, esses compostos foram utilizados em combinação com outros ingredientes como etanol, formaldeído, peróxido de hidrogênio, bisguanidas, iodóforos e aldeídos, para produzir antissépticos comerciais (JENNINGS et al., 2015).

No Brasil, a liberação dos produtos domissanitários com ação antimicrobiana, segundo a portaria nº 15 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, publicada em 23 de agosto de 1988, autorizou a utilização dos princípios ativos aldeídos, formaldeído, glioxal, glutaraldeído e paraformaldeído. Entre os compostos fenólicos foram autorizados o 4-terc-amilfenol, 2-

benzil-4-clorofenol, 4-terc-butilfenol, cresóis, 2-fenilfenol, 2-hidroxidifenileter e 2-hidroxi-2'-4-4'-triclorodifenileter. Também foram autorizados os quaternários de amônio, cloreto de alquil dimetil benzil amônio, cloreto de alquil dimetil etilbenzil amônio, cloreto de alquil dimetil etiltoluil amônio, cloreto de lauril piridínio, cloreto e brometo de cetil trimetil amônio, cloreto de alquil trimetil amônio, dicloreto de polioxietileno etileno e dicloreto de polioxietileno metileno. Além desses compostos, foram liberados iodo e derivados, álcoois e glicóis e biguanidas (ANVISA, 1988).

Na última década, os QACs têm sido mais estudados e passaram a ser aplicados em diversas áreas. As formulações que contêm BAC são amplamente utilizadas na limpeza e desinfecção domiciliar, estabelecimentos hospitalares e agrícolas, na indústria alimentícia e no tratamento antifúngico na horticultura e também empregado como conservante em produtos farmacêuticos, como colírios oftálmicos e descongestionantes nasais (NOECKER et al., 2011). O CPC normalmente faz parte das formulações de produtos de higiene pessoal, tais como cremes dentais, pastilhas e enxaguatórios bucais. Já compostos contendo CTAB têm propriedades como agente estabilizante e também possuem aplicações industriais, como na fabricação de amaciantes, condicionadores de cabelo e no tratamento de águas residuais. Esse composto também é utilizado para extração de moléculas de DNA (CHAIDEZ et al., 2007; DEUS et al., 2017).

1.1 Estrutura geral dos compostos de amônio quaternário (QACs)

Os QACs são agentes tensoativos ou surfactantes catiônicos, amplamente conhecidos pela sua potente propriedade biocida. Esses compostos têm a capacidade de agir como desinfetantes e antissépticos e a maioria das formulações que contêm QACs em sua composição não requerem enxágue após seu uso. O termo desinfetante refere-se a todas as formulações que são aplicadas em superfícies inertes ou artigos inanimados com a finalidade de remover

microrganismos patogênicos. Já o termo antisséptico é utilizado para todas as formulações que contêm um agente germicida, microbicida ou bactericida, seguros para a aplicação em organismos vivos, podendo ser utilizados na higienização das mãos, anti-sepsia das feridas, entre outras aplicações (OBLAK et al., 2018).

A estrutura química geral dos QACs apresenta uma porção catiônica, na qual o nitrogênio está ligado covalentemente a quatro grupos alquila ou arila, mantendo sua carga positiva e a estabilidade da molécula independentemente do pH, além de uma porção aniônica, carregada negativamente e constituída por cloro ou bromo (**Figura 1**). Os radicais alquila encontram-se entre as moléculas de carbono C8 e C18, no entanto, os mais eficientes são aqueles produtos que contêm uma combinação de C12-C14 (GERBA., 2015).

Figura 1. Estrutura geral dos compostos QACs

Fonte: (GERBA et al., 2015).

1.1.2 Cloreto de benzalcônio (BAC)

O cloreto de benzalcônio é um composto surfactante catiônico, conhecido também como ADBAC ou BAC (cloreto de alquil-benzil-dimetilamônio ou cloreto de benzalcônio). Estruturalmente são constituídos por uma região hidrofóbica e outra hidrofílica e são facilmente solúveis em água, álcool e acetona (**Figura 2**). Sua utilização como biocida é muito comum em

ambientes hospitalares (humano-veterinário), na desinfecção de superfícies, pele e mucosas (BEIER et al., 2015). Na área de processamento de alimentos, este composto é utilizado com o objetivo de garantir a segurança microbiológica dos produtos alimentícios, no entanto, a ampla utilização nessa área tem gerado uma grande preocupação sobre o possível papel dos QACs na disseminação das bactérias resistentes. Nos últimos anos, esse problema vem sendo frequentemente relatado em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas isoladas de alimentos (JIANG et al., 2015).

Figura 2. Estrutura química do cloreto de benzalcônio

Fonte: (GERBA et al., 2015).

1.1.3 Cloreto de cetilpiridínio (CPC)

É um composto de amônio quaternário (**Figura 3**), reconhecido por possuir uma atividade antimicrobiana de amplo espectro, além disso possui atividades potentes contra fungos, como *Candida albicans*. Inicialmente, o CPC era destinado apenas como agente germicida na aplicação cutânea, como por exemplo na preparação de pacientes para posteriores procedimentos cirúrgicos de grande porte. Com o tempo, foram descobertas novas propriedades do CPC, ampliando o seu campo de aplicação (HAGAN et al., 1946; EDLIND et al., 2005). Atualmente, o CPC é frequentemente utilizado como componente importante na preparação de

vários produtos de higiene pessoal, tais como cremes dentais, pastilhas e enxaguatórios bucais; com o intuito de prevenção da placa bacteriana e do tratamento da gengivite, assim como antisséptico em descongestionantes nasais (ZHANG et al., 2018; BEIER et al., 2016). O CPC tem como alvo a membrana celular e, como agente de tensão superficial, altera sua permeabilidade levando ao vazamento do conteúdo celular. Esse composto tem demonstrado muitos benefícios na redução de placa bacteriana e grande eficiência contra halitose, inibindo o crescimento microbiano e alterando a expressão de genes relacionados à produção de compostos de enxofre voláteis (LIU et al., 2013).

Figura 3. Estrutura química do cloreto de cetilpiridínio

Fonte:(JENNINGS et al., 2015).

1.1.4 Brometo de cetiltrimetilamônio (Cetrimida)

O CTAB é um composto quimicamente tensoativo ou surfactante catiônico do tipo amônio quaternário (**Figura 4**). Apresenta uma ótima atividade contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas em pH alcalino, mas sua atividade pode ser prejudicada na presença de detergentes aniônicos, pois formam um complexo insolúvel. Como surfactante típico, o CTAB também possui propriedades de agente estabilizante (GAN et al., 2018). Na área industrial, o CTAB é aplicado na fabricação de amaciantes e condicionadores de cabelo (JENNINGS et al., 2015). Pela sua potente propriedade antibacteriana, é empregado na

desinfecção de água (JIN et al., 2015). Na área de insumos da biologia molecular, o (CTAB) é um surfactante muito utilizado numa concentração de 2%, para isolamento de DNA de tecidos contendo altas quantidades de polissacarídeos (CLARKE., 2009, SANTOS; ARAÚJO, 2017).

Figura 4. Estrutura química do brometo de cetiltrimetilamônio.

Fonte: (GERBA et al., 2015).

1.2 Mecanismo de ação

Os QACs são compostos bastante conhecidos desde a década de 1930, por apresentarem uma atividade antimicrobiana de amplo espectro. Esses agentes catiônicos têm uma grande afinidade contra a carga oposta. O alvo predominante desses compostos é a membrana citoplasmática e seu mecanismo de ação (**Figura 5**) é baseado na interação eletrostática que ocorre entre o nitrogênio, carregado positivamente, e a membrana citoplasmática das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, dos bolores e leveduras, e de vírus não lipídicos, carregadas negativamente (BAZINA et al., 2019). Os danos causados na membrana celular ocorrem nos seguintes eventos: (i) absorção e penetração dos QACs na parede celular; (ii) reação com a membrana citoplasmática (lipídio ou proteína), seguida da desorganização da membrana; (iii) extravasamento do conteúdo de material intracelular de menor peso molecular devido ao rompimento da membrana; (iv) desnaturação de proteínas, ácidos nucleicos e enzimas; e (v) lise da parede celular ocasionada por enzimas autolíticas (GERBA et al., 2015). No entanto, os

QACs apresentam uma eficácia marcadamente aumentada contra bactérias Gram-positivas. Isso é devido à presença de uma única membrana citoplasmática constituída por fosfolipídios e uma parede celular mais espessa composta por uma camada de peptidoglicano, que não parece atuar como barreira contra a entrada de substâncias de alto peso molecular, como os QACs, nessas bactérias. Esta maior eficácia também é compartilhada com bolores e leveduras (SHTYRLIN et al., 2016).

Figura 5. Mecanismos de ação dos QACs contra bactérias.

Legenda: A) MC; Membrana citoplasmática

Fonte: Adaptado de JENNINGS et al., 2015.

1.3 Mecanismos de resistência aos QACs

O fenômeno de resistência aos QACs é conhecido desde as décadas de 1950 e 1960 e, da mesma forma como acontece com os antibióticos, baseia-se nos mecanismos de resistência

intrínseca e resistência adquirida. Atualmente, vários estudos descritos na literatura relatam o aumento da resistência bacteriana a estes compostos (RUSSELL AD., 2003).

A resistência intrínseca geralmente está mais evidenciada em bactérias Gram-negativas, devido à presença da membrana externa, e em *Mycobacterium* spp., devido a sua composição estrutural da parede celular. Adicionalmente, esporos bacterianos também são intrinsecamente resistentes. Por outro lado, esta resistência também pode estar relacionada à atividade basal das bombas de efluxo (HEGSTAD et al ., 2010).

A resistência adquirida pode ocorrer quando as bactérias são expostas por longos períodos a formulações que contenham QACs. As concentrações sub-inibitórias não são rapidamente neutralizadas e o ambiente pode vir a selecionar populações bacterianas resistentes a altas taxas de concentração destes compostos, assim como acontece com os antibióticos. A resistência adquirida é ocasionada por mutação ou superexpressão de genes cromossômicos endógenos, ou pela aquisição de elementos genéticos móveis, tais como plasmídeos, integrons e transposons, que abrigam genes de resistência (VIJAYAKUMAR et al., 2018).

A expressão reduzida de porinas é um mecanismo amplamente distribuído entre as espécies Gram-negativas. As bactérias expostas a concentrações subletais de QACs são capazes de reduzir os níveis de OMPs, como OmpF e OmpA. A superexpressão de bombas de efluxo também é um mecanismo bastante comum e confere resistência aos antibióticos, QACs e compostos tóxicos, pois sua principal função baseia-se na expulsão de compostos nocivos para a célula bacteriana (JIANG et al., 2017). Há cinco principais classes de sistemas de efluxo, (i) os transportadores de cassete de ligação ao ATP (ABC), (ii) transportadores de metabólitos de fármacos, incluindo a pequena família de resistência a múltiplos fármacos (SMR), (iii) a grande superfamília de facilitadores principal (MFS), (iv) a família de resistência-nodulação-divisão (RND) e (v) as proteínas de expulsão de múltiplos compostos tóxicos (MATE) (AHMAD et al., 2018). Elementos genéticos móveis, como os grandes plasmídeos portadores de determinantes de resistência e integrons, são responsáveis por conferir resistência tanto aos

antibióticos quanto aos QACs. Os integrons de classe 1 contém segmentos conservados nas duas extremidades, 5'e 3'. A extremidade 3' alberga um gene, *qacEΔ1*, que codifica uma bomba de efluxo parcialmente deletada mas funcional, além do gene *sulI*, que confere resistência a sulfonamidas. Este fato aponta para a probabilidade da existência de resistência cruzada entre antibióticos e os QACs, já que esses genes, que se encontram no mesmo segmento conservado de DNA, conferem resistência aos ATBs e QACs, simultaneamente (AMOS et al., 2018).

Figura 6. Mecanismo de resistência dos QACs conferidos pelo sistema *qacA/R*.

Legenda: QACs presentes no citoplasma (vermelho) ligam-se a QacR (amarelo), o regulador transcricional negativo de *qacA*. Após a ligação, QacR induz a produção de QacA (verde). QacA, uma bomba de efluxo ancorada na membrana, utiliza a força motriz de prótons (FPP) para remover os QACs do interior da célula e da membrana.

Fonte: Adaptado de (JENNIN et al., 2015).

1.4 Caracterização molecular dos genes de resistência aos (QACs)

Há poucos relatos na literatura sobre a caracterização molecular da resistência aos QACs. Os genes mais prevalentes são cromossômicos e codificam bombas de efluxo, tais como

sugE(c), *emrE*, *ydgE*, *ydgF* e *mdfA*, pertencentes à pequena família de resistência a multidroga (SMR), com exceção do gene *mdfA*, que pertence à superfamília MFS. Também foram descritos outros cinco genes, *qacE*, *qacEΔ1*, *qacF*, *qacG* e *sugE(p)*, que codificam bombas de efluxo pertencentes à família SMR e foram identificados em elementos genéticos móveis, como os plasmídeos e integrons (ZOU et al., 2014; JIANG et al., 2017).

1.5 Metodologias para teste de biocidas

Desde que os biocidas passaram a ser utilizados na desinfecção e higiene dos hospitais (humano-veterinário), ambientes domésticos e alimentos com o intuito de garantir a segurança microbiológica, as indústrias têm produzido diversos produtos contendo surfactantes catiônicos, tais como os compostos de amônio quaternário.

Prévio a sua comercialização, desinfetantes e outros biocidas são submetidos a testes que avaliam a sua atividade antimicrobiana. Para essa finalidade, a Norma Europeia (EM 1040 e EM 1276) padronizou o teste da suspensão quantitativa de diluição-neutralização, cujos critérios determinam que uma redução $\geq 5 \log_{10}$ na contagem de colônias viáveis após 5 minutos de incubação a uma temperatura de 20°C, é o critério utilizado para afirmar que o biocida apresenta efeito bactericida (BUFFET-BATAILLON et al., 2012).

Em 1985 foi adotado no Brasil o método qualitativo de diluição-uso, padronizado pela “Association of Official Analytical Chemist” (AOAC), para avaliar o efeito dos desinfetantes de uso comercial. Utilizando essa metodologia, Timenetsky (2005) avaliou o efeito de cinco desinfetantes recém introduzidos no comércio e relatou que, apesar de apresentarem 99,99 % de efeito germicida, um dos desinfetantes estava contaminado por *Enterobacter* spp.

Apesar das normas utilizadas serem suficientes para a liberação dos produtos contendo biocidas como os QACs, esses documentos não estipulam critérios de interpretação para definir resistência e sensibilidade dos microrganismos a esses compostos.

O método apropriado para a avaliação da resistência ou sensibilidade dos microrganismos aos QACs seria a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), através de diluição em ágar ou microdiluição em caldo. No entanto, não há padronização desses testes para a análise desses compostos, como há para antibacterianos e alguns antifúngicos.

Com o aumento da resistência aos QACs observado nos últimos anos, vários estudos vêm adaptando essas metodologias para avaliar a atividade antimicrobiana desses compostos contra patógenos bacterianos, já que são fáceis de executar e tem boa reprodutibilidade.

As interpretações utilizadas para antibacterianos e antifúngicos não podem ser aplicadas para os QACs, pois poderiam levar a conclusões erradas. Por esta razão, a maioria dos trabalhos que tentam adaptar o parâmetro da determinação da CIM para esses compostos classificam os resultados obtidos apenas como sensibilidade reduzida ou tolerância aumentada (ZOU et al 2014; WU et al ., 2015; BEIER et al., 2015; JIANG et al., 2015; DEUS et al., 2017; ABDELAZIZ et al., 2019). Assim, ainda há uma necessidade de padronizar os pontos de corte para a determinação da sensibilidade ou resistência dos QACs.

1.6 Bactérias multirresistentes

No Brasil, o aumento das infecções ocasionadas por microrganismos patogênicos que apresentam resistência aos antimicrobianos, em ambientes hospitalares, é uma preocupação. Para combater esse problema, a limpeza e desinfecção nos hospitais é primordial e pode ser realizada por processos físicos ou químicos, com a finalidade de destruir os microrganismos patogênicos. Entre os agentes químicos mais amplamente utilizados para limpeza e desinfecção das superfícies estão os desinfetantes a base de compostos de amônio quaternário, como o cloreto de benzalcônio (SANTA BÁRBARA., et al 2012).

A resistência das *Enterobacteriaceae* a múltiplos antimicrobianos (MDR), representa uma séria ameaça global para a saúde humana, limitando muitas vezes as opções de tratamento na maioria das infecções.

Em 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou uma lista com uma classificação de "patógenos prioritários", agrupando doze famílias de bactérias resistentes a antibióticos, destacando principalmente a grande ameaça das bactérias Gram-negativas resistentes a múltiplos antibióticos disponíveis para o tratamento humano, tais como carbapenêmicos e cefalosporinas de terceira geração; já que nos centros hospitalares as bactérias com esse perfil de resistência são responsáveis pela maioria das infecções mais críticas, como as complicações dos quadros de septicemia e pneumonia.

De acordo com a ineficácia dos antibióticos em uso, a lista da OMS foi dividida em três categorias de prioridade. No primeiro grupo, de prioridade crítica, estão incluídos *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos e várias *Enterobacteriaceae*, incluindo *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia* e *Proteus*, resistentes aos carbapenêmicos e produtoras de ESBL. No segundo grupo, de prioridade alta, estão incluídos *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e intermediário ou resistente à vancomicina, *Helicobacter pylori* resistente à claritromicina, *Campylobacter* spp. resistentes à fluoroquinolonas, *Salmonella* resistente às fluoroquinolonas, e *Neisseria gonorrhoeae* resistente às cefalosporinas e fluoroquinolonas. O terceiro grupo, de prioridade média, inclui *Streptococcus pneumoniae* penicilina não suscetível, *Haemophilus influenzae* resistente à ampicilina, e *Shigella* spp. resistentes às fluoroquinolonas (OMS, 2017). A resistência às polimixinas é um outro problema clínico, e atualmente a resistência mediada por mutação ou produção de fosfoetanolamina transferase codificada por plasmídeos que carregam genes *mcr*, têm sido mundialmente reportada em *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella* spp., incluindo cepas resistentes aos carbapenêmicos e/ou fluoroquinolonas (ANTOCHEVIS et al 2018; CAYÔ et al., 2018; CERDEIRA et al., 2018; FERNANDES et al 2017; MOURA et al., 2018; SELLERA et al., 2018).

Essas bactérias multirresistentes atualmente não estão restritas às infecções hospitalares, e têm se disseminado em diferentes ecossistemas, incluindo humanos, animais de companhia, alimentos e meio ambiente, e vêm sendo associadas com processos infecciosos de importância clínica, tanto na medicina humana como veterinária (BASSETTI et al., 2016).

Frente a esse panorama, torna-se importante avaliar o efeito de QACs contra essas espécies bacterianas multirresistentes para garantir sua eficácia, principalmente na limpeza hospitalar, e auxiliar na diminuição da disseminação da resistência.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade *in vitro* dos QACs de uso doméstico e hospitalar [cloreto de benzalcônio (BAC), cloreto de cetilpiridínio (CPC) e brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB)], contra patógenos prioritários multirresistentes, identificando os principais genes de resistência associados.

2.2 Objetivos específicos

1. Padronização dos métodos de microdiluição em caldo e diluição em ágar para avaliar a suscetibilidade bacteriana aos QACs.
2. Identificação *in silico* dos genes de resistência aos QACs em cepas bacterianas com sequenciamento de genoma completo.
3. Detectar a presença dos genes de resistência aos QACs por PCR convencional.
4. Correlacionar a presença de genes de resistência aos QACs com valores de CIM.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Cepas bacterianas

Nos últimos anos, nosso grupo de pesquisa vem realizando o monitoramento de bactérias Gram-negativas multirresistentes, isoladas de diferentes hospedeiros e ecossistemas. Neste estudo, foram escolhidos 100 cepas da nossa coleção bacteriana, representativas de hospedeiros (humanos e animais) e fontes (ambientes doméstico, aquático e alimentos); pertencentes às espécies *Klebsiella pneumoniae* (n=24), *Escherichia coli* (n=30); *Pseudomonas* spp. (n=10), *Enterobacter* spp., (n=8), *Acinetobacter baumannii* (n=11) e *Salmonella* spp. (n=17). Todas as cepas foram previamente sequenciadas usando as plataformas Illumina MiSeq e NextSeq. Os detalhes sobre as características das cepas selecionadas para este estudo podem ser observados no **Quadro 1**. Foram utilizadas cepas ATCC como controle para a padronização dos métodos de diluição em ágar e microdiluição em caldo para determinação das CIMs aos QACs. Dados do sequenciamento de algumas cepas ATCC foram obtidas da base de dados *GenBank*. **Quadro 2**.

Quadro 1. Características epidemiológicas e genótipos de resistência aos antimicrobianos das cepas selecionadas para este estudo.

ID das cepas	Origem	Microorganismo	Estado/País	Ano	ST/GC	Genes de resistência	Referência
KP488	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2011	11/258	<i>aacA4, aac(3)-IIa, bla_{KPC-2}, bla_{SHV-11}, bla_{TEM-1B}, bla_{OXA-2}, fosA, oqxA, oqxB, catA1, dfrA30, sul1.</i>	Cerdeira et al., 2018
KPHU468	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2015	29/29	<i>aac(6')Ib-cr, aac(3)-IIa, aph(6)-Id, aph(3'')-Ib, bla_{SHV-83}, bla_{TEM-1B}, bla_{OXA-1}, bla_{CTX-M-15}, oqxB, oqxA, qnrB1, fosA, catB4, sul2, tet(A), dfrA14.</i>	Moura et al., 2017
1194	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2011	340/258	<i>aph(3'')-Ib, aadA1, aac(6')-Ib3, aac(3)-IId, rmtG, aph(6)-Id, aadA2, bla_{TEM-1B}, bla_{SHV-182}, bla_{CTX-M-15}, bla_{KPC-2}, bla_{OXA-9}, oqxB, oqxA, qnrB19, catA1, ARR-6, sul1, sul2, tet(B), dfrA8, dfrA14, dfrA15.</i>	Cerdeira et al., 2018
KPN535	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2011	340/258	<i>aadA1, aph(3')-Via, aph(3')-Ia, aac(3)-IId, aadA2, bla_{SHV-11}, bla_{KPC-2}, bla_{CTX-M-15}, qnrB19, oqxA, fosA, cmlA1, sul3, sul1, dfrA14, dfrA12.</i>	Cerdeira et al., 2018
Kp148	Ambiente aquático	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2011	437/258	<i>aac(6')Ib-cr, aph(3')-Ia, bla_{SHV-11}, bla_{CTX-M-15}, bla_{OXA-1}, bla_{KPC-2}, oqxB, oqxA, fosA, mph(A), catB4, catA1, sul1, tet(A), dfrA30.</i>	Cerdeira et al., 2018
BL-I-05(3)	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	AM/BR	2013	198/198	<i>bla_{CTX-M-15}, bla_{TEM-1B}, bla_{SHV-11}, aac(3)-IIa, strA, aac(6')Ib-cr, oqxA, fosA, catA1, sul2, tetA.</i>	Não publicado
Kp196	Ambiente aquático	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2011	437/258	<i>aac(6')Ib-cr, aph(3')-Ia, bla_{SHV-11}, bla_{OXA-1}, bla_{KPC-2}, bla_{CTX-M-15}, aac(6')Ib-cr, oqxB, oqxA, fosA, mph(A), catB4, sul1, dfrA30.</i>	Cerdeira et al., 2018
KPC45	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	MG/BR	2015	11/258	<i>bla_{CTX-M-15}, bla_{SHV-11}, bla_{KPC-2}, oqxB, oqxA, fosA, sul2.</i>	Cerdeira et al., 2018
KPBr1	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2003	442/258	<i>aph(3')-Via, aadA1, aac(6')-3I, bla_{SHV-110}, bla_{CTX-M-9}, bla_{IMP-1}, oqxB, oqxA, fosA, sul1</i>	Lincopan et al., 2005
606B	Animal de produção	<i>K. pneumoniae</i>	MG/BR	2011	340/258	<i>aadA2, aac(3)-IId, strA, aph(3')-Ia, aph(6)-Id, bla_{TEM-1A}, bla_{SHV-11}, bla_{CTX-M-15}, qnrS1,</i>	Cerdeira et al., 2018

						<i>oqx</i> B, <i>oqx</i> A, <i>mph</i> (A), <i>cat</i> A2, <i>flo</i> R, <i>sul</i> 1, <i>sul</i> 2, <i>tet</i> (A), <i>tet</i> (D), <i>dfr</i> A14, <i>dfr</i> A12.	
KP76	Animal de companhia	<i>K. pneumoniae</i>	PB/BR	2015	231/231	<i>ant</i> (2'')-Ia, <i>aph</i> (3')-Ia, <i>aac</i> (6')Ib-cr, <i>aac</i> (3)-IIa, <i>aph</i> (3'')-Ib, <i>aph</i> (6)-Id, <i>aad</i> A2, <i>aad</i> A1, <i>bla</i> _{SHV-1} , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{OXA-1} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>oqx</i> B, <i>oqx</i> A, <i>fos</i> A, <i>qnr</i> B1, <i>mph</i> (A), <i>sul</i> 2, <i>sul</i> 1, <i>cat</i> B4, <i>tet</i> (A), <i>dfr</i> A14, <i>dfr</i> A12, <i>dfr</i> A21	Silva et al., 2018
SIC4	Animal de companhia	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2017	340/258	<i>aph</i> (3')-Ia, <i>aac</i> (3)-IIId, <i>aad</i> A2, <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{SHV-11} , <i>qnr</i> B19, <i>oqx</i> B, <i>oqx</i> A, <i>fos</i> A, <i>mph</i> (A), <i>sul</i> 1, <i>tet</i> (D), <i>tet</i> (A), <i>dfr</i> A12, <i>dfr</i> A25.	Não publicado
IBL2.4	Ambiente aquático	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2013	11/258	<i>bla</i> _{SHV-11} , <i>bla</i> _{KPC-2} , <i>qxA</i> , <i>oqx</i> B, <i>fos</i> A, <i>tet</i> (A), <i>dfr</i> A30.	Cerdeira et al., 2018
Kp171	Ambiente aquático	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2011	340/258	<i>aad</i> A2, <i>aac</i> (3)-IIId, <i>bla</i> _{SHV-11} , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{KPC-2} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>oqx</i> A, <i>oqx</i> B, <i>qnr</i> B2, <i>fos</i> A, <i>cat</i> A2, <i>sul</i> 1, <i>tet</i> (D), <i>dfr</i> A12, <i>dfr</i> A25.	Cerdeira et al., 2018
S8.3	Animal selvagem	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2017	617/10	<i>bla</i> _{CTX-M15}	Não publicado
S10	Animal selvagem	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2017	11/258	<i>aac</i> A4, <i>aac</i> (3)-IIa, <i>bla</i> _{SHV-11} , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{OXA-2} , <i>bla</i> _{KPC-2} , <i>aac</i> (6') Ib-cr, <i>oqx</i> B, <i>oqx</i> A, <i>fos</i> A, <i>mph</i> (A), <i>cat</i> A, <i>sul</i> 1.	Não publicado
S7	Animal selvagem	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2017	11/258	<i>aac</i> (3)-IIId, <i>aad</i> A2, <i>rmt</i> B, <i>aph</i> (3'')-Ib, <i>aph</i> (6)-Id, <i>bla</i> _{SHV-11} , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{KPC-2} , <i>bla</i> _{CTX-M-14} , <i>oqx</i> A, <i>oqx</i> B, <i>qnr</i> B19, <i>fos</i> A, <i>erm</i> (42), <i>sul</i> 1, <i>sul</i> 2, <i>tet</i> (G), <i>dfr</i> A12.	Não publicado
1ECKPC	Humano	<i>K.pneumoniae</i>	LI/PE	2017	340/258	<i>aad</i> A16, <i>aac</i> A4, <i>aad</i> A2, <i>bla</i> _{TEM-1A} , <i>bla</i> _{SHV-11} , <i>bla</i> _{OXA-2} , <i>bla</i> _{KPC-2} , <i>aac</i> (6')-Ib-cr, <i>oqx</i> B, <i>oqx</i> A, <i>qnr</i> B52, <i>fos</i> A, <i>mph</i> (A), <i>arr</i> -3, <i>sul</i> 1, <i>tet</i> (D), <i>dfr</i> A27.	Cerdeira et al., 2018
KpHu421	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2012	29/29	<i>aac</i> (3)-IIa, <i>aac</i> (6')Ib-cr, <i>aph</i> (6)-Id, <i>aph</i> (3'')-Ib, <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{SHV-83} , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{OXA-1} , <i>oqx</i> B, <i>oqx</i> A, <i>qnr</i> B66, <i>aac</i> (6')Ib-cr, <i>fos</i> A, <i>sul</i> 2, <i>tet</i> (A), <i>dfr</i> A14.	Não publicado
S3.2	Animal selvagem	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2017	11/258	<i>aph</i> (3')-Ia, <i>aac</i> A4, <i>bla</i> _{OXA-2} , <i>bla</i> _{SHV-11} , <i>bla</i> _{KPC-2} , <i>bla</i> _{CTX-M-2} , <i>oqx</i> B, <i>oqx</i> A, <i>aac</i> (6')Ib-cr, <i>fos</i> A, <i>mph</i> (A), <i>cat</i> A1, <i>sul</i> 1.	Não publicado

KpHu585	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2015	29/29	<i>aac(3)-IIa, aph(6)-Id, aph(3'')-Ib, aac(6')Ib-cr, bla_{CTX-M-15}, bla_{SHV-83}, bla_{TEM-1B}, bla_{OXA-1}, oqxB, oqxA, aac(6')Ib-cr, qnrB66, fosA, catB4, sul2, tet(A), dfrA14</i>	Não publicado
AKP	Ambiente doméstico	<i>K. pneumoniae</i>	SP/BR	2017	307/307	<i>aph(3'')-Ib, aac(6')Ib-cr, aph(6)-Id, bla_{TEM-1B}, bla_{SHV-28}, bla_{OXA-1}, bla_{CTX-M-15}, aac(6')Ib-cr, oqxA, oqxB, qnrB66, fosA, sul2, tet(A), dfrA14.</i>	Nao publicado
KPBL-III-02(1)	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	AM/BR	2013	198/10	<i>aac(6')-Ib-cr, aac(3)-IIa, aph(6)-ld, aph(3'')-lb, bla_{TEM-1B}, bla_{SHV-81}, bla_{CTX-M-15}, bla_{OXA-1}, oqxB, aac(6')-Ib-cr, qnrB1, oqxA, fosA, catB3, catA1, sul2, tet(A), dfrA14.</i>	Não publicado
KPBL-III-03(1)	Humano	<i>K. pneumoniae</i>	AM/BR	2013	198/10	<i>aac(6')-Ib-cr, aac(3)-IIa, aph(6)-ld, aph(3'')-lb, bla_{TEM-1B}, bla_{SHV-81}, bla_{CTX-M-163}, bla_{OXA-1}, aac(6')-Ib-cr, oqxB, oqxA, qnrB1, fosA, catB3, catA1, sul2, tet(A), dfrA14.</i>	Não publicado
HEC01	Humano	<i>E. coli</i>	SP/BR	2017	117/SN	<i>aph(6)-Id, aph(3'')-Ib, bla_{CTX-M-8}, bla_{TEM-1B}, bla_{CTX-M-55}, fosA3, sul2, dfrA5.</i>	Fernandes et al., 2018
Ec05	Animal de companhia	<i>E. coli</i>	AM/BR	2013	6993/SN	<i>bla_{CTX-M-14}, bla_{TEM-1B}, erm(B)</i>	Não publicado
ICBEC79H	Humano	<i>E. coli</i>	RN/BR	2016	224/SN	<i>aph(3')-Ia, aadA1, aac(3)-Via, bla_{CTX-M-2}, sul2, sul1, tet(A), mcr-1</i>	Não publicado
ICBEC72H	Humano	<i>E. coli</i>	RN/BR	2016	101/101	<i>mcr-1.1</i>	Fernandes et al., 2016
ICBEC2AM	Ambiente aquático	<i>E. coli</i>	SP/BR	2016	1638/10	<i>mcr-1.1</i>	Fernandes et al., 2017
ICBEC3AM	Ambiente aquático	<i>E. coli</i>	SP/BR	2016	46/46	<i>aadA1, aph(6)-Id, aph(3'')-Ib, bla_{TEM-1B}, mcr-1, qnrB19, catA1, sul2, sul1, tet(A), dfrA1, dfrA8.</i>	Fernandes et al., 2017
ICBEC7AM	Ambiente aquático	<i>E. coli</i>	SP/BR	2016	10/10	<i>bla_{CTX-M-8}</i>	Não publicado
34VL	Animal de produção	<i>E. coli</i>	SP//BR	2014	90/23	<i>aph(3')-Ia, aadA5, aac(3)-IId, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, bla_{TEM-1B}, bla_{CTX-M-15}, qnrB19, mph(A), sul2, sul1, tet(B), dfrA17.</i>	Não publicado
13B	Animal de produção	<i>E. coli</i>	SP/BR	2014	90/23	<i>aph(3')-Ia, aph(6)-Id, aac(3)-IId, aadA5, aph(3'')-Ib, bla_{TEM-1B}, bla_{CTX-M-15}, mph(A), sul2, sul1, tet(B), tet(A), dfrA8, dfrA17.</i>	Sartori et al., 2017

44924	Animal de companhia	<i>E. coli</i>	SP/BR	2012	2541/SN	<i>bla</i> _{CTX-M-8} , <i>tetB</i> .	Melo L.C et al. ,2018
ECCF1	Alimento	<i>E. coli</i>	SP/BR	2013	93/168	<i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>aac(3)-IId</i> , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{CTX-M-8} .	Casella et al., 2015
ICBECPX6	Animal selvagemmm	<i>E. coli</i>	SP/BR	2017	744/10	<i>aadA5</i> , <i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aph(4)-Ia</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>aac(3)-IVa</i> , <i>bla</i> _{CTX-M-2} , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>mph(A)</i> , <i>mph(B)</i> , <i>catA1</i> , <i>floR</i> , <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(A)</i> , <i>tet(B)</i> , <i>dfrA17</i> , <i>dfrA7</i> .	Sellera et al., 2018
ICBECG2	Animal de companhia	<i>E. coli</i>	SP/BR	2017	648/648	<i>aac(3)-Via</i> , <i>aadA1</i> , <i>bla</i> _{CTX-M-2} , <i>qnrB19</i> , <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(B)</i> , <i>bla</i> _{CTX-M-2} .	Fernandes et al., 2018
ICBECG4	Animal de companhia	<i>E. coli</i>	SP/BR	2017	648/648	<i>aadA5</i> , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>erm(B)</i> , <i>mph(A)</i> , <i>sul1</i> , <i>tet(B)</i> , <i>dfrA17</i> .	Fernandes et al., 2018
44917	Animal de companhia	<i>E. coli</i>	SP/BR	2012	371/350	<i>bla</i> _{CTX-M-2}	Melo L.C et al. ,2018
SIC2	Animal de companhia	<i>E. coli</i>	SP/BR	2017	648/648	<i>aac(3)-IIa</i> , <i>aac(6')Ib-cr</i> , <i>aadA5</i> , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{OXA-1} , <i>aac(6')Ib-cr</i> , <i>mph(A)</i> , <i>sul1</i> , <i>tet(B)</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA17</i> .	Não publicado
SIC1	Animal de companhia	<i>E. coli</i>	SP/BR	2017	648/648	<i>aadA5</i> , <i>ant(2'')-Ia</i> , <i>aadA1</i> , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>catA1</i> , <i>sul1</i> , <i>tet(B)</i> , <i>dfrA17</i> .	Não publicado
ECTALHA	Animal selvagemmm	<i>E. coli</i>	SP/BR	2017	5506/SN	<i>aadA16</i> , <i>aadA1</i> , <i>aph(3')-Ia</i> , <i>aac(3)-VIa</i> , <i>bla</i> _{TEM-1C} , <i>bla</i> _{CTX-M-2} , <i>mdf(A)</i> <i>sul1</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA27</i> .	Não publicado
44921	Animal de companhia	<i>E. coli</i>	SP/BR	2012	457/SN	<i>bla</i> _{CTX-M-2} , <i>qnrA</i> , <i>qnrB</i>	Melo L.C et al. ,2018
E.cMLT	Humano	<i>E.coli</i>	CB/BO	2017	1508	<i>aph(3')-Ia</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>aph(3'')-Ib</i> , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{CTX-M-69} , <i>mcr-1.1</i> , <i>qnrB19</i> , <i>fosA3</i> , <i>floR</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA1</i> .	Não publicado
E.cIB36	Humano	<i>E.coli</i>	CB/BO	2016	457/SN	<i>aadA1</i> , <i>aac(6')-Ib</i> , <i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aph(6)-Id</i> <i>aadA2</i> , <i>bla</i> _{CTX-M-8} , <i>bla</i> _{CTX-M-69} , <i>bla</i> _{TEM-1C} , <i>bla</i> _{OXA-9} , <i>mcr-1.1</i> , <i>aac(6')-Ib-cr</i> , <i>fosA3</i> , <i>mdf(A)</i> , <i>floR</i> , <i>cmlA1</i> , <i>sul3</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA12</i> .	Não publicado
R-3	Humano	<i>E.coli</i>	CB/BO	2017	457/SN	<i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>mdf(A)</i> , <i>mph(A)</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(B)</i> , <i>dfrA8</i> .	Não publicado

278H	Humano	<i>E.coli</i>	SP/BR	2017	624/648	<i>aph(6)-Id</i> , <i>aadA1</i> , <i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aadA2</i> , <i>aph(4)-Ia</i> , <i>aac(3)-IV</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>mcr-1.1</i> , <i>mdf(A)</i> , <i>catA1</i> , <i>cmlA1</i> , <i>sul3</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA1</i> .	Não publicado
277H	Humano	<i>E.coli</i>	SP/BR	2017	Novo	<i>aac(3)-IId</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>bla_{SHV-12}</i> , <i>mcr-1.1</i>	Não publicado
67B	Animal selvagem	<i>E.coli</i>	ÑB/CH	2018	2705	<i>bla_{CTX-M-8}</i>	Não publicado
63	Animal selvagem	<i>E. coli</i>	ÑB/CH	2018	Nova	<i>bla_{CTX-M-8}</i>	Não publicado
16VS	Animal de produção	<i>E.coli</i>	SP/BR	2014	90/23	<i>aph(3')-Ia</i> , <i>aadA5</i> , <i>aac(3)-IId</i> , <i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>bla_{CTX-M-15}</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>mph(A)</i> , <i>sul2</i> , <i>sul1</i> , <i>tet(B)</i> , <i>dfrA12</i> .	Não publicado
14071	Humano	<i>E. coli</i>	PR/BR	2017	224/SN	<i>aph(3')-Ia</i> , <i>aadA1</i> , <i>aadA2</i> , <i>bla_{CTX-M-8}</i> , <i>bla_{TEM-1A}</i> , <i>mcr-1.1</i> , <i>mdf(A)</i> , <i>cmlA1</i> , <i>sul3</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA12</i> .	Não publicado
14462	Humano	<i>E. coli</i>	PR/BR	2017	Novo	<i>aph(3')-Ia</i> , <i>aadA1</i> , <i>mcr-1.1</i> , <i>qnrB19</i> , <i>floR</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(B)</i> .	Não publicado
N1	Humano	<i>E. coli</i>	ARG	2012	8125/10	<i>aac(3)-IIa</i> , <i>aac(6')Ib3</i> , <i>bla_{CTX-M-2}</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>bla_{OXA-2}</i> , <i>aac(6')Ib-cr</i> , <i>sul1</i> , <i>dfrA8</i> .	Não publicado
151	Alimento Espinafre	<i>E. cloacae</i>	SP/BR	2016	927/SN	<i>bla_{CTX-M-15}</i> , <i>bla_{OXA-1}</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>bla_{ACT-7}</i> , <i>strA</i> , <i>strB</i> , <i>aac(3)-IIa</i> , <i>aac(6')Ib-cr</i> , <i>aadA1</i> , <i>qnrB1</i> , <i>sul2</i> , <i>drfA14</i> , <i>catA1</i> , <i>catB3</i> , <i>tet(A)</i> , <i>fosA</i>	Não publicado
SIC3	Animal	<i>Enterobacter spp</i>	SP/BR	2017	114/SN	<i>aac(6')Ib-cr</i> , <i>aadA1</i> , <i>aac(3)-IIa</i> , <i>bla_{ACT-16}</i> , <i>bla_{OXA-1}</i> , <i>bla_{CTX-M-15}</i> , <i>aac(6')-Ib-cr</i> , <i>qnrB1</i> , <i>fosA</i> , <i>catB4</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA14</i> , <i>dfrA1</i> ,	Não publicado
BL-II-14 (1)	Humano	<i>E. kobei</i>	AM/BR	2013	414/SN	<i>bla_{CTX-M-8}</i> , <i>bla_{TEM-1A}</i> , <i>bla_{OXA-9}</i> , <i>aac(6')-Ib</i> , <i>aadA1</i> , <i>aac(6')Ib-cr</i> , <i>fosA</i>	Não publicado
BL-III-03 (2)	Humano	<i>E. kobei</i>	AM/BR	2013	125/SN	<i>bla_{CTX-M-15}</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>bla_{OXA-1}</i> , <i>aac(6')Ib-cr</i> , <i>strA</i> , <i>strB</i> , <i>aac(3)-IIa</i> , <i>aadA1</i> , <i>qnrB1</i> , <i>fosA</i> , <i>catB3</i> , <i>catA1</i> , <i>sul2</i> , <i>tetA</i> , <i>dfrA14</i>	Não publicado
ICBECLAM 6	Ambiente aquático	<i>E. cloacae</i>	SP/BR	2016	520/10	<i>bla_{KPC-2}</i> , <i>bla_{CTX-M-15}</i> , <i>bla_{OXA-17}</i> .	Sellera et al.,2017

Ec9	Humano	<i>E. cloacae</i>	SP/BR	2013	184/184	<i>aac(6')Ib, rmtG, aadA1, bla_{ACT-7}, bla_{CTX-M-2}, bla_{OXA-9}, bla_{TEM-1A}, aac(6')Ib-cr, fosA, mph(A), sul2, sul1, dfrA14</i>	Não publicado
Ec13	Humano	<i>E. cloacae</i>	SP/BR	2013	121/28	<i>aac(6')Ib, rmtG, aadA1, bla_{CTX-M-2}, bla_{ACT-7}, bla_{OXA-9}, bla_{TEM-1A}, aac(6')Ib-cr, fosA, sul2, sul1, tet(C).</i>	Não publicado
4 E.clo	Humano	<i>E.cloacae</i>	ARG	2016	66/SN	<i>aph (3')-Ib, bla_{TEM-1B} , bla_{ACT-7}, qnrB19, fosA, sul2.</i>	Não publicado
ICBHVIM 2	Humano	<i>P. aeruginosa</i>	SP/BR	2017	233/SN	<i>aadA2, aph(3')-IIb, aac(3)-IIa , aph(6)-Id, aac(3)-Id, aac(6')Ib-cr, bla_{OXA-50}, bla_{CTX-M-15}, bla_{TEM-1B}, bla_{VIM-2}, bla_{OXA-4}, bla_{SHV-83}, aac(6')Ib-cr, oqxA, fosA, catB4, cmlA1, catB7, sul2, sul1, tet(A), tet(G), dfrB5, dfrA14.</i>	Fernandes et al., 2018
IVBSVIM2	Ambiente doméstico	<i>P. aeruginosa</i>	SP/BR	2017	233/SN	<i>aadA2, aph (3')-IIb, aac (3)-Id, bla_{OXA-50}, bla_{OXA-4}, bla_{VIM-2}, bla_{PAO}, cmlA1, catB7, sul1, tet(G), dfrB5,</i>	Fernandes et al., 2018
ICBDVIM2	Animal	<i>P. aeruginosa</i>	SP/BR	2017	233/SN	<i>aadA2, aac (3)-Id, aph (3')-IIb, bla_{PAO}, bla_{OXA-50}, bla_{OXA-4}, bla_{VIM-2}, fosA, cmlA1, catB7, sul1, tet(G), dfrB5.</i>	Fernandes et al., 2018
Pa19	Ambiente Aquatic	<i>P. aeruginosa</i>	SP/BR	2010	277/270	<i>aadA7, aph (3')-IIb, aac(6')-Ib3, bla_{PAO}, bla_{SPM-1}, bla_{OXA-56}, bla_{OXA-396}, crpP, aac(6')-Ib-cr, fosA, cmx, sul.</i>	Turano et al., 2016
CIB Helena	Humano	<i>P. aeruginosa</i>	SP/BR	-	884/SN	<i>aph (3')-IIb, bla_{PAO}, bla_{OXA-485}, crpP, fosA, catB7.</i>	Não publicado
CCBH19841	Humano	<i>P. aeruginosa</i>	RJ/BR	-	2726/SN	<i>aph (3')-IIb, bla_{KPC-2}, bla_{PAO}, bla_{OXA-396}, fosA, catB7.</i>	Não publicado
CCBH24061	Humano	<i>P. aeruginosa</i>	RJ/BR		1978/73	<i>aac(6')-II, bla_{VIM-2}, crpP, sul1</i>	Não publicado
P.aD6	Ambiente aquatic	<i>P. aeruginosa</i>	SP/BR	2013	Novo	<i>aph(3')-IIb, aac(6')Ib3, aadA6, bla_{PAO}, bla_{CTX-M-2}, bla_{OXA-488}, aac(6')Ib-cr, fosA, catB7, sul1.</i>	Não publicado
P.a 64	Humano	<i>P. aeruginosa</i>	SP/BR	2009	1560/SN	<i>aac(6')-II, aph (3')-IIb, aac(6')-Ib3, bla_{PAO}, bla_{GES-5}, bla_{OXA-395}, crpP, aac(6')-Ib-cr, fosA, catB7, catB3, ARR-4, sul1.</i>	Polotto et al., 2012

64H	Humano	<i>P. putida</i>	SP/BR	2017	Novo	<i>aph (3')-VI, aph (3'')-Ib, aadA1, aac(6')-31, aac(6')-II, aph(6)-Id, bla_{VIM-2}, bla_{IMP-10}, sul1.</i>	Não publicado
ST018	Alimento Frango de corte	<i>S. Heidelberg</i>	SP/BR	2016	15/SN	<i>aac(6')-Iaa, bla_{CMY-2}, fosA7, sul2, tet(A)</i>	Não publicado
SE2	Alimento Frango salgado	<i>S. Enteritidis</i>	SC/BR	2012	11/11	<i>aac(6')-laa, gyrA</i>	Não publicado
ST019	Alimento Frango de corte	<i>S. Heidelberg</i>	SP/BR	2016	15/SN	<i>aac(6')-Iaa, bla_{CMY-2}, fosA7, sul2, tet(A)</i>	Não publicado
ST013	Alimento Frango de corte	<i>S. Typhimurium</i>	PR/BR	2015	19/SN	<i>aac(6')-Iaa, aac(3)-IIa, aadA1, bla_{TEM-1A}, qnrE1, sul1, tet (A).</i>	Não publicado
ST014	Alimento Frango de corte	<i>S. Typhimurium</i>	SP/BR	2015	19/SN	<i>aadA2b, aac(6')-Iaa, bla_{TEM-1B}, tet(M), tet (A), drfA12.</i>	Não publicado
ST015	Alimento Estomago de suíno	<i>S. Typhimurium</i>	SP/BR	2015	19/SN	<i>aph (3'')-Ib, aph (6')-Id, aac(6')-Iaa, bla_{TEM-1A}, oqxA, oqxB, floR, sul2, tet (B)</i>	Não publicado
ST06	Alimento Frango de corte	<i>S. Typhimurium</i>	PR/BR	2015	19/SN	<i>aph (3')-Ib, aph (6')-Id, aac(3)-IIa, aadA1, aac(6')-Iaa, bla_{TEM-1B}, qnrE1, floR, sul1, tet (A), drfA</i>	Não publicado
SI05	Alimento carne de frango	<i>S. Infantis</i>	SC/BR	2015	32/32	<i>aac(6')-Iaa, bla_{CTX-M-8}, bla_{TEM-1B}, floR, tet(A), dfrA8</i>	Não publicado
SF10	Alimento peito de frango	<i>S. Heidelberg</i>	SP/BR	2016	15/SN	<i>aac(6')-Iaa, bla_{CMY-2}, fosA7, sul2, tet(A).</i>	Não publicado
SF12	Alimento peito de frango	<i>S. Heidelberg</i>	SP/BR	2016	15/SN	<i>aac(6')-Iaa, bla_{CMY-2}, fosA7, sul2, tet (A).</i>	Não publicado
ST2	Alimento Fígado de suíno	<i>S. Typhimurium</i>	PR/BR	2000	3438/SN	<i>aac(6')-Iaa, aadA1, aac(3)-IIa, bla_{TEM-1B}, qnrE1, floR, sul1, tet (A), drfA1.</i>	Não publicado
STY13	Alimento carne de suíno	<i>S. Typhimurium</i>	PR/BR	2000	3438/73	<i>aac(3)-IIa, aac(6')-Iaa, aadA1, bla_{TEM-1B}, qnrE1, floR, sul1, tet (A), drfA1.</i>	Não publicado
SAL14	Infecção humano	<i>S. Muenchen</i>	SP/BR	2013	112/ 8	<i>aph(3')-Ia, aac(6')-Iaa, aadA1, bla_{CTX-M-2}, sul1, tet(A).</i>	Moura et al., 2018
SAL65505	Alimento Carne de frango	<i>S. Minnesota</i>	MS/BR	2010	3088/SN	<i>aac(6')-Iaa, bla_{CMY-2}, tet(A).</i>	Moura et al., 2018
SAL58370	Alimento carne de frango	<i>S. Typhimurium</i>	MS/BR	2010	19/SN	<i>AadA2, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, aac(6')-Iaa, bla_{CTX-M-2}, sul1, tet(B), tet(D), tet(A), dfrA12.</i>	Moura et al., 2018

67A	Coruja	<i>S. Infantis</i>	ÑB/CH	2018	32/32	<i>aph(3')-Ia, aph(4)-Ia, aadA1, aac(6)-Iaa, aac(3)-IV, bla_{CTX-M-65}, floR, sul1, tet(A), dfrA14.</i>	Não publicado
97	Humano	<i>S. Typhimurium</i>	ARG	2014	19/SN	<i>bla_{CTXM-14}, qnrB19.</i>	Não publicado
A546	Humano	<i>A. baumannii</i>	AR/CH	2015	225/226	<i>aph(3')-Vla, aac(3)-IIa, bla_{ADC-25}, bla_{OXA-219}, bla_{TEM-1B}.</i>	Opazo-Capurro et al., 2018
A562	Humano	<i>A. baumannii</i>	CO/CH	2015	225/226	<i>bla_{OXA-51}, bla_{ADC-25}, bla_{OXA-23}.</i>	Opazo-Capurro et al., 2018
A97-11	Humano	<i>A. baumannii</i>	BI/CH	1997	109/SN	<i>aph(3')-Vla, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, aadA1, aac(3)-IIa, ant(2'')-Ia, bla_{TEM-1B}, bla_{OXA-67}, bla_{ADC-25}, bla_{SCO-1}, floR, catB2, sul2, dfrA1.</i>	Opazo-Capurro et al., 2018
A93-03	Humano	<i>A. baumannii</i>	BI/CH	1993	109/SN	<i>aadA1, aph(3')-Vla, aph(6)-Id, ant(2'')-Ia, aph(3'')-Ib, aac(3)-IIa, bla_{ADC-25}, bla_{TEM-1B}, bla_{SCO-1}, bla_{OXA-67}, floR, catB2, sul2, dfrA.</i>	Opazo-Capurro et al., 2018
A356	Humano	<i>A. baumannii</i>	AR/CH	2009	235/SN	<i>aph(3')-Vla, bla_{ADC-25}, bla_{OXA-23}, bla_{OXA-51}.</i>	Opazo-Capurro et al., 2018
A541	Humano	<i>A. baumannii</i>	AR/CH	2015	225/226	<i>aph(3')-Vla, bla_{ADC-25}, bla_{OXA-219},</i>	Opazo-Capurro et al., 2018
A90-41	Humano	<i>A. baumannii</i>	VA/CH	1990	109/SN	<i>ant(2'')-Ia, aadA1, bla_{ADC-25}, bla_{OXA-67}, floR, catB2, sul2, dfrA1.</i>	Opazo-Capurro et al., 2018
A462	Humano	<i>A. baumannii</i>	SAN/CH	2011	225/226	<i>aph(3')-Vla, bla_{OXA-58}, bla_{OXA-219}, bla_{ADC-25}.</i>	Opazo-Capurro et al., 2018
Ab3_Ch	Humano	<i>A. baumannii</i>	OS/CH	2017	225/226	<i>aac(3)-IIa, aph(3')-Vla, bla_{ADC-25}, bla_{TEM-1B}, bla_{OXA-219}.</i>	
120	Ambiental	<i>A. baumannii</i>	SP/BR	-	227/10	<i>aph(3')-Vla, aph(6)-Id, aph(3'')-Ib, aadA1, bla_{OXA-23}, bla_{ADC-25}, bla_{OXA-65}, bla_{TEM-1A}, floR, sul2, dfrA1.</i>	Turano et al., 2016
5.14	Humano sangue	<i>A. baumannii</i>	SP/BR	2008	783/23	<i>aph(3')-Vla, aadA1, aph(3'')-Ib, aac(6')-Ib3, aph(6)-Id, bla_{TEM-1A}, bla_{ADC-25}, bla_{OXA-23}, bla_{OXA-65}, aac(6')-Ib-cr, mph(E), msr(E), floR, sul2, dfrA1</i>	Não publicado

BR; Brasil, MG; Minas Gerais, PB; Paraíba, RN; Rio Grande do Norte, RJ; Rio de Janeiro, PR; Paraná, SC; Santa Catarina, MS; Mato Grosso do Sul, AM; Amazonas, SP; São Paulo, PE; Perú, LI; Lima, CH; Chile, VA; Valparaíso, SAN; Santiago, BI; Biobío, CO; Coquimbo, AR; Araucanía, ÑB; Ñuble, OS; Osorno), ARG; Argentina, BO; Bolívia, CB; Cochabamba, SN; *Singlet*.

Tabela 1. Cepas controle selecionadas para o presente estudo e numeros de acesso dos genomas obtidos do GenBank.

Identificação	Espécie	Numero de acesso dos genomas
ATCC 25922	<i>E. coli</i>	CP009072
ATCC 8739	<i>E. coli</i>	NC_010468.1
DH5L	<i>E.coli</i>	NZ_CP025520.1
ATCC13883	<i>K. pneumoniae</i>	JOOW000000000
ATCC27853	<i>P. aeruginosa</i>	AJKG000000000
ATCC15442	<i>P. aeruginosa</i>	AYUC000000000
P.a 01	<i>P. aeruginosa</i>	NC_002516.2
ATCC13048	<i>K. aerogenes</i>	-
ATCC14028	<i>S.Typhimurium</i>	MTFW000000000.1
ATCC 10708	<i>S. Choleraesuis</i>	NZ_CP012344.2
ATCC 6537	<i>S. Typhi</i>	-
ATCC 13076	<i>S.Enteritidis</i>	LSHA000000000.1
ATCC 19606	<i>A. baumannii</i>	JMRY000000000

3. 1. 1 Recuperação das cepas

As cepas previamente armazenadas em glicerol, no freezer -80 °C, foram reativadas inoculando 30 µL em tubos contendo 3 mL de caldo BHI e posteriormente incubadas em estufa a 37 °C durante um período de 18-24 h. Após esse tempo foram semeados 10 µL em placas de ágar MacConkey para observar a pureza das cepas.

3. 1. 2 Determinação da CIM (concentração inibitória mínima)

Inicialmente, se realizou a padronização da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para os três QACs utilizando as cepas controle (**Tabela 1**) e empregando os métodos de diluição em ágar e microdiluição em caldo. Em seguida, foram avaliadas as cepas

de *Klebsiella pneumoniae* (n=24), *Escherichia coli* (n=30), *Enterobacter* spp., (n=8), *Pseudomonas aeruginosa* (n=10), *Acinetobacter baumannii* (n=11) e *Salmonella* spp. (n=17).

3. 1. 3 Preparo das soluções estoque dos compostos de amônio quaternário (QACs)

O preparo das soluções de estoque dos QACs, Cloreto de benzalcônio (Sigma Aldrich; 100% de pureza); Cloreto de cetilpiridínio (Sigma Aldrich; 100% de pureza) e Brometo de cetiltrimetilamônio (Amersham Life Science; 99.7% de pureza) foram preparados contendo uma concentração final de 20.480 µg/mL utilizando água como solvente geral.

3. 1. 4 Diluição em agar

Para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) dos QACs pelo método de diluição em agar, foi estimado o intervalo de concentrações entre 1024 e 0,0625 µg/mL. O preparo das soluções de uso dos QACs foi realizado utilizando 15 microtubos de 2 mL para cada QAC (BAC, CPC e CTAB), dos quais 14 microtubos continham 1 mL de água ultra pura estéril e os primeiros microtubos continham 2 mL das soluções estoque. Em seguida, foi realizada uma diluição seriada, na proporção 1:2. Como resultado, foram obtidos 15 microtubos de cada QAC com as seguintes concentrações: 20.480; 10.240; 5.120; 2.560; 1.280; 640; 320; 160; 80; 40; 20; 10; 5; 2,5 e 1,25 µg/mL.

Para o preparo das placas de ágar contendo as diferentes concentrações de QACs, foram utilizados 15 tubos de ensaio contendo 19 mL de ágar Muller Hinton (BD) autoclavados para cada composto. Uma vez estabilizada a temperatura do ágar entre 45 a 50 °C, foi adicionado em cada tubo 1 mL das diferentes concentrações resultantes das diluições seriadas dos QACs. Após homogeneização, o meio foi distribuído em placas de Petri de 90 x 15mm estéreis. Assim, as placas ficaram com faixa de concentrações finais de 1.024 a 0,06 µg/mL.

Os inóculos bacterianos foram preparados a partir de cepas previamente crescidas durante 24 h em estufa à uma temperatura de 37 °C, em ágar MacConkey (seletivo e diferencial

para Gram-negativos). Posteriormente, foram semeadas em tubos contendo 3 mL de caldo Muller Hinton e incubadas em agitador rotativo a uma temperatura de 37 °C a 150 rpm, até atingir seu crescimento exponencial. Posteriormente, a turbidez foi ajustada à escala 0,5 de McFarland, e confirmada por meio da leitura de absorbância de 0,08 – 0,1, equivalente a 1×10^8 UFC/mL, a um comprimento de onda de 625 nm. A diluição do inóculo realizou-se na proporção de 1:10 (100 µL de suspensão bacteriana + 900 µL de caldo Mueller Hinton estéril). Imediatamente foram semeados 3 µL das suspensões bacterianas diluídas sobre a superfície das placas de ágar Mueller-Hinton contendo as diferentes concentrações de cada QAC. As placas foram incubadas em estufa à 37 °C durante 24 h. Após esse período, foi definida a CIM de QACs capaz de inibir o crescimento bacteriano (WU et al ., 2015).

3. 1. 5 Microdiluição em caldo

Para a execução do método microdiluição em caldo, foi utilizado um intervalo de concentrações dos QACs de 1024 - 2 µg/mL. A partir da solução estoque 10 vezes concentrada dos QACs, procedeu-se a preparação de uma solução de uso com uma concentração final de 2.048 µg/mL.

Com auxílio de uma pipeta multicanal calibrada, dispensou-se 50 µL de caldo Mueller-Hinton Cátion-Ajustado em cada um dos 96 poços de uma microplaca de fundo U estéril. Posteriormente, adicionou-se em todos os poços da coluna 1, 50 µL de solução dos QACs a uma concentração de 2.048 µg/mL. Posteriormente, realizou-se diluição seriada na proporção 1:1 até a coluna 10, resultando em concentrações entre 1.024 a 2 µg/mL. As colunas 11 e 12 foram utilizadas para avaliar a viabilidade bacteriana (controle positivo) e controle de esterilidade do meio (controle negativo), respectivamente. O preparo dos inóculos foi realizado como descrito no item **3. 1. 4**. A diluição do inóculo bacteriano foi realizada na proporção de 1:100 (10 µL de suspensão bacteriana + 990 µL de caldo Mueller Hinton). Posteriormente, foram distribuídos 50 µL das suspensões bacterianas nos poços da microplaca, com exceção

dos poços da coluna 12, que foram mantidos sem inóculo para avaliação do controle de esterilidade do meio de cultura. As microplacas foram incubadas a 37 °C durante 24 h. Após esse período, as CIMs dos compostos de amônio quaternário foram registradas, considerando no momento da leitura as concentrações finais de 512 a 1 µg/mL dos QACs avaliados, para a obtenção do valor da menor concentração de desinfetante que inibe completamente crescimento bacteriano (WU et al., 2015).

3. 1. 6 Calculo de CIM90 e CIM50 das 100 cepas

Os calculo dos valores dos resultados para as CIMs distribuídas nas 100 cepas, foram realizados fazendo cálculos dos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) capazes de inibir 50% e 90% das 100 cepas testadas (CIM50 e CIM90), para os três compostos de amônio quaternario

3. 1. 7 Identificação *in silico* dos genes QACs

A identificação *in silico* dos genes de resistência aos QACs foi realizada através do alinhamento de *contigs* das 100 cepas *Klebsiella pneumoniae* (n=24), *Escherichia coli* (n=30); *Pseudomonas* spp (n=10), *Enterobacter* spp (n=8), *Acinetobacter baumannii* (n=11) e *Salmonella* spp. (n=17), e das ATCC com 14 genes de referência depositados no GenBank (**Quadro 2**), utilizando o programa Geneious versão 8 (Biomatters Ltd). As identidades dos genes identificados foram analisadas utilizando o programa *online* BLASTx, que promove o alinhamento de uma sequência de nucleotídeos traduzida contra um banco de dados.

Quadro 2. Genes de referência dos QACs obtidos do GenBank e numeros de acesso dos genomas

Gene	Número de acesso dos genomas
<i>qacEAI</i>	JN596280
<i>qacE</i>	X68232
<i>qacF</i>	JN596279
<i>qacH</i>	NC_019081.1
<i>qacI</i>	HQ875011
<i>qacG</i>	FJ950725
<i>emrE</i>	AIGY01000024
<i>mdfA</i>	Y08743
<i>sugE(c)</i>	X69949
<i>sugE(p)</i>	HQ023864
<i>qacA</i>	WP_085803118
<i>qacL</i>	WP_000800531.1
<i>ydgE</i>	NC_00964.3:6041
<i>ydgF</i>	NC_000964.3:c608

* *sugE (c)*, codificado no cromossomo.

**sugE (p)*, codificado no plasmídeo.

3. 1. 8 Extração de DNA

O DNA de todas as cepas foi extraído pelo método de fervura (CHAPMAN et al., 2001), que consiste em aliquotar 1,5 mL de suspensão bacteriana em microtubos e centrifugá-la durante 5 min a 10.000 rpm, a 4 °C. Uma vez descartado o sobrenadante, o precipitado foi pesado em balança analítica, ressuspendido em água Milli-Q estéril (p:v) e homogeneizado. A suspensão foi submetida à fervura durante 10 min a 100 °C e, posteriormente, mantida em banho de gelo por 5 min. Em seguida, a suspensão foi centrifugada novamente durante 15 min a 10.000

rpm, a 4 °C. O sobrenadante contendo DNA foi aliquotado em tubos de 0.5 mL e armazenado a -20° C.

3. 1. 9 Padronização das reações de PCR para QACs

Para identificação dos genes qac mais frequentes identificados pela análise *in silico* de todas as cepas estudadas, *Klebsiella pneumoniae* (n=24), *Escherichia coli* (n=30), *Enterobacter* spp., (n=8), *Pseudomonas aeruginosa* (n=10), *Acinetobacter baumannii* (n=11) e *Salmonella* spp. (n=17), assim como das cepas controle, foi realizada pela técnica de PCR convencional, utilizando *primers* específicos descritos na literatura e alguns desenhados neste estudo.

A amplificação dos genes-alvo foi realizada em reações de 25 µL contendo 100 ng de DNA; tampão de PCR 1X [Tris-HCl (pH 8,4)] (Sinapse), 1,6 mM de MgCl₂ (Sinapse); 0.2 mM de cada dNTP (Sinapse); 0.2 µM de cada *primer* e 1-2,5 U de Taq DNA polimerase (Sinapse). As condições de amplificação foram: 1 ciclo de 94 °C por 2 min, 30 ciclos de 94°C por 30 seg, anelamento com temperatura e tempo específicos, extensão a 72°C por 1 min; e extensão final com 1 ciclo de 72 °C por 5 min. Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1%. Foi utilizado o marcador de massa molecular de DNA *100 bp Plus* (Thermo Fisher Scientific).

3. 1. 10 Sequências de *primers* para identificação dos genes qac.

Os oligonucleotídeos utilizados para a identificação da presença de genes qac, em todas as cepas avaliadas neste estudo estão apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Sequências dos *primers* utilizados neste estudo, temperatura de anelamento e tamanho dos fragmentos obtidos.

Genes	Sequencia (5'-3')	T° de anelamento	Tamanho do produto (pb)	Referencia
<i>qacEΔ1</i>	AATCCATCCCTGTCGGTGTT CGCAGCGACTTCCACGATGGGGAT	56°C (25s)	175	ZOU et al., 2014
<i>qacE</i>	GCGAAGTAATCGCAACATCC ATACCTACAAAGCCCCACGC	60°C (25s)	235	Este estudo
<i>qacF</i>	GGCTGTTTCAATCTTTGGCGA GTGCGCTGACCTTGGATAG	60°C (30s)	308	Este estudo
<i>qacH</i>	ACGGGCTTGCGTTCTATTTTC GCTGACCTTGGATAGCAGGT	60°C (30s)	206	Este estudo
<i>qacL</i>	GTAGTTGTGGCTGGCTACGG CGCTGACCTTGGATAGCAGG	64°C (30s)	223	Este estudo
<i>qacA</i>	TTTTTCAGGGCAAACAGCGG ACAAAGCTGTACATTGACACC	60°C (25s)	670	Este estudo
<i>emrE</i>	TATTTATCTTGGTGGTGCAATAC ACAATACCGACTCCTGACCAG	55°C (25s)	195	ZOU et al., 2014
<i>mdfA</i>	GGCGGSATGTTTTTACARTGGCT GCATRTGCAGCATHCCCATCGC	62°C (35s)	886	Este estudo
<i>sugE(c)</i>	GTTGAAATTCCCCTGCCACC ATACCCGTCCACACGGCATA	62°C (30s)	305	Este estudo

4. RESULTADOS

4.1 Padronização de métodos de suscetibilidade para avaliação de QACs

Os resultados obtidos na padronização da determinação de CIMs pelas metodologias de diluição em ágar e microdiluição em caldo, realizadas em triplicata, estão apresentados nas **Tabelas 3 e 4**, repectivamente, e evidenciam que a metodologia de microdiluição em caldo apresentou melhor reprodutibilidade. Sendo assim, as interpretações para as demais linhagens deste estudo foram realizadas com base nos valores das CIMs das cepas controle pelo metodo de microdiluição em caldo. As análises *in silico* de sequências dos genomas completos de algumas cepas controle, como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Tiphimurium e *Salmonella* Enteritidis, revelaram a presença de genes cromossomicos de resistência aos QACs, tais como *mdfA*, *qacA*, *sugE(c)* e *emrE*. A análise pelo programa BLASTx mostra similaridades a partir de 96,09% para esses genes (**Tabela 4**).

Tabela 3. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) de QACs, em triplicata, para as cepas controle utilizando o método de diluição em ágar

Cepa	Espécie	Triplicata de CIM ($\mu\text{g/ml}$)								
		BAC			CPC			CTAB		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
ATCC 13883	<i>K. pneumoniae</i>	32	32	16	64	128	32	128	256	128
ATCC 25922	<i>E. coli</i>	16	64	32	64	128	64	512	256	256
ATCC 8739	<i>E. coli</i>	64	32	32	64	64	32	128	64	128
DH5 α	<i>E.coli</i>	32	32	16	32	16	16	64	64	64
ATCC 19606	<i>A. baumannii</i>	32	32	64	64	64	32	64	256	64
ATCC 15442	<i>P. aeruginosa</i>	512	512	512	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
ATCC27853	<i>P. aeruginosa</i>	256	256	256	>1024	1024	>1024	>1024	1024	>1024
PA01	<i>P. aeruginosa</i>	512	256	512	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
ATCC 13048	<i>K. aerogenes</i>	32	64	32	256	256	64	512	512	128
ATCC14028	<i>S.Typhimurium</i>	128	64	256	512	512	512	512	1024	512
ATCC 10708	<i>S. Choleraesuis</i>	128	128	256	512	512	128	1024	512	1024
ATCC 13076	<i>S. Enteritidis</i>	16	16	16	64	128	128	128	64	64
ATCC 6537	<i>S. Typhi</i>	128	128	256	512	512	512	512	512	512

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB).

Tabela 4. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) de QACs, em triplicata para cepas controle utilizando o método de microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACS *in silico* e pela técnica de PCR.

Cepa	Espécie	Triplicata de CIM (µg/ml)									Genes <i>qac</i> <i>in silico</i>	BLASTx		PCR
		BAC			CPC			CTAB				ID	COB	
		1	2	3	1	2	3	1	2	3				
ATCC13883	<i>K. pneumoniae</i>	16	16	16	8	8	8	16	16	16	<i>mdfA</i> <i>qacA</i>	99.76% 99.04%	99% 99%	<i>mdfA</i> <i>qacA</i>
ATCC 25922	<i>E. coli</i>	16	16	16	8	8	8	16	16	16	<i>mdfA</i> <i>sugE(c)</i> <i>emrE</i>	100% 96.09% 100%	99% 99% 99%	<i>mdfA</i> <i>sugE(c)</i> <i>emrE</i>
ATCC 8739	<i>E. coli</i>	16	16	16	4	4	4	16	16	16	<i>mdfA</i> <i>sugE(c)</i>	99.51% 99.34%	99% 99%	<i>mdfA</i> <i>sugE(c)</i>
DH5α	<i>E.coli</i>	32	32	32	4	4	4	8	8	8	<i>mdfA</i> <i>sugE(c)</i>	99.76% 99.44%	99% 99%	<i>mdfA</i> <i>sugE(c)</i>
ATCC27853	<i>P. aeruginosa</i>	64	64	128	64	64	64	128	128	128	-			-
ATCC15442	<i>P. aeruginosa</i>	64	64	64	64	64	64	128	128	128	-			-
PA01	<i>P. aeruginosa</i>	128	128	128	128	128	128	256	256	256	-			-
ATCC13048	<i>K. aerogenes</i>	16	16	32	8	8	8	16	16	16				<i>mdfA</i>
ATCC14028	<i>S.Typhimurium</i>	32	32	32	32	32	32	64	64	64	<i>mdfA</i>	100%	99%	<i>mdfA</i>
ATCC 10708	<i>S. Choleraesuis</i>	64	64	32	32	32	16	32	32	32				
ATCC 13076	<i>S. Enteritidis</i>	16	16	16	8	8	8	16	16	8	<i>mdfA</i>	100%	99%	<i>mdfA</i>
ATCC 6537	<i>S. Typhi</i>	64	64	64	16	16	16	64	64	64				-
ATCC 19606	<i>A. baumannii</i>	16	16	16	8	8	8	16	16	16	-			-

Concentração inibitória mínima (CIM), Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Identidade (ID), Cobertura (COB), Tradução da sequência de nucleotídeos em proteína (BLASTx), Reação em cadeia da polimerase (PCR).

4. 2 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *Klebsiella pneumoniae*

Os resultados das 24 cepas avaliadas de *Klebsiella pneumoniae*, pertencentes as diferentes origens (humano, animal e ambiente) apresentados na **Tabela 5**, evidenciaram a seguinte distribuição de CIMs para BAC, CPC e CTAB, de 16-128, 4-32 e 16-32 µg/ml, respectivamente. Estes valores mostram uma redução de susceptibilidade de CIMs para os três compostos testados neste estudo, com exceção de algumas cepas que apresentaram valores iguais ou até menores quando comparados com a cepa ATCC 13883 utilizada como controle para esta espécie **Tabela 5.1**. Ressaltando que apenas uma cepa de origem humano e três de origem ambiental apresentaram CIMs altas para BAC. Adicionalmente, a avaliação *in silico* dos genomas revelaram a presença de genes de resistência aos QACs, descritos na literatura como cromossômicos. Assim o gene *mdfA* foi detectado em 24 (100%) cepas e *qacA* em 19 (79,16%) cepas. A presença dos mesmos foi observada também na cepa ATCC 13883 controle, e o gene *sugE(c)* em 1 (4,16%) cepa. Por outro lado foram identificados outros genes descritos na literatura como plasmidiais, tais como; *qacEΔ1* em 13 (54,17%) cepas, *qacE* em 14 (58,33%) cepas, e os genes *qacH*, *qacL* e *qacF* foram identificados em apenas uma cepa de origem humana. Observou-se que algumas cepas que apresentaram valores de CIMs iguais ou menor que a cepa controle, apresentam apenas genes descritos na literatura como cromossômicos. Já as cepas que possuem genes descritos como plasmidiais na literatura, neste estudo, apresentaram CIMs consideravelmente mais elevadas.

As análises de similaridade avaliadas pelo programa *online* BLASTx, foram consideradas acima de 93% até 100%. Os resultados da identificação de genes de resistência pelo método de PCR convencional, foram corroborados a concordância com os genes identificados *in silico*.

Tabela 5. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs *in silico* e PCR encontradas para as cepas de *K. pneumoniae*.

Espécie (n) Origem (n)	Distribuição de CIMs (µg/ml)										Nº de cepas	Genes <i>qac in silico</i> /PCR								
	BAC				CPC				CTAB			<i>mdfA</i>	<i>sugE(c)</i>	<i>qacA</i>	<i>qacE</i>	<i>qacEΔ1</i>	<i>qacF</i>	<i>qacH</i>	<i>qacL</i>	
	16	32	64	128	4	8	16	32	16	32										
<i>K. pneumoniae</i> (n =24)	11	9	3	1	3	6	11	4	9	15	24/24	24/24	1/1	19/19	14/14	13/13	1/1	1/1	1/1	
Humano (n =12)	8	3		1	3	4	4	1	7	5	12	12/12		12	4	4	1	1	1	
Animal (n =7)	1	6				1	5	1	1	6	7	7/7	1	5	6	6				
Ambiente (n =5)	2		3			1	2	2	1	4	5	5/5		2	4	3				

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de Cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Reação em cadeia da polimerase (PCR).

Tabela 5.1. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$), e genes de resistência aos QACs, da cepa controle ATCC

Identificação	Espécie	Triplicata de CIM (µg/ml)									Genes <i>qac in silico</i>	PCR
		BAC			CPC			CTAB				
		1	2	3	1	2	3	1	2	3		
ATCC13883	<i>K. pneumoniae</i>	16	16	16	8	8	8	16	16	16	<i>mdfA</i> , <i>qacA</i>	pos

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de Cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Reação em cadeia da polimerase (PCR). Positivo (POS)

4. 3 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *Escherichia coli*.

Os resultados das 30 cepas de *Escherichia coli* estudadas pertencentes as diferentes origens (humano, animal, ambiente e alimento) estão apresentados na **Tabela 6**. Evidenciaram uma distribuição de CIMs, para BAC, CPC e CTAB, de 8-32, 2-16 e 8-32 µg/ml, respectivamente. Estes valores são iguais ou menores quando comparadas com as três cepas ATCC que foram utilizadas como controle para os três compostos testados **Tabela 6.1**, com exceção de apenas uma cepa de origem animal que apresentou CIM levemente elevada para o composto CTAB, e outra de origem ambiente para CPC.

Em relação aos resultados da identificação *in silico* dos genes de resistência, duas cepas de origem ambiental não apresentaram nenhum dos 14 genes *qac*, dentre os pesquisados neste estudo. Em contrapartida as outras 28 cepas apresentaram uma alta frequência de genes descritos como cromossômicos na literatura, tais como o gene *mdfA*, que foi identificado em 27 (90%) cepas, *emrE* em 21 (70%) cepas, e o gene *sugE(c)*, em 28 (93.3%) cepas, os mesmos foram também identificados nas três cepas controle mostardo na **Tabela 6.1**. Por outro lado, também foram identificados genes descritos na literatura como plasmidiais, tais como: *qacEAI* e *qacE*, que foram identificados em 12 (40%) cepas e os genes *qacF*, *qacH* e *qacL*, apenas foram identificadas em 3 (10%) cepas de origem humano.

As análises de similaridade avaliadas pelo programa online BLASTx, foram consideradas acima de 93.64 até 100%. Os resultados da identificação de genes de resistência pelo método de PCR convencional, dos genes corroboraram com as encontradas pelo método da identificação *in silico*.

Tabela 6. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs *in silico* e PCR das cepas de *E. coli*.

Espécie (n)	Distribuição de CIM (µg/ml)										Nº de cepas	Genes <i>qac in silico</i> /PCR								
Origem (n)	BAC			CPC				CTAB				<i>mdfA</i>	<i>sugE(c)</i>	<i>emrE</i>	<i>qacE</i>	<i>qacEΔ1</i>	<i>qacF</i>	<i>qacH</i>	<i>qacL</i>	
	8	16	32	2	4	8	16	8	16	32										
<i>E. coli</i> (n =30)	2	9	19	1	15	13	1	10	19	1	28/30	27/27	28/28	21/21	12/12	12/12	3/3	3/3	3/3	
Humano (n =11)	2	6	3	1	7	3		6	5		11/11	11	11	5	2	2	3	3	3	
Animal (n =15)		3	12		7	8		4	10	1	15/15	14	15	14	9	9				
Ambiente (n =3) *			3		1	1	1		3		1/3	1	1	1	1	1				
Alimento (n =1)			1			1			1		1/1	1	1	1						

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de Cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Reação em cadeia da polimerasa (PCR).

Tabela 6.1. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$), e genes de resistência aos QACs, das cepas controle

Identificação	Espécie	Triplicata de CIM (µg/ml)									Genes <i>qac in silico</i>	PCR
		BAC			CPC			CTAB				
		1	2	3	1	2	3	1	2	3		
ATCC 25922	<i>E. coli</i>	16	16	16	8	8	8	16	16	16	<i>mdfA, sugE(c), emrE</i>	Pos
ATCC 8739	<i>E. coli</i>	16	16	16	4	4	4	16	16	16	<i>mdfA, sugE(c)</i>	Pos
DH5α	<i>E.coli</i>	32	32	32	4	4	4	8	8	8	<i>mdfA, sugE(c)</i>	Pos

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Reação em cadeia da polimerasa (PCR), Positivo POS.

5. 4 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *Enterobacter* spp.

Os resultados das 8 cepas de *Enterobacter* spp, pertencentes as diferentes origens (humano, animal, ambiente e alimento) são apresentados na **Tabela 7**. Evidenciaram os seguintes valores de distribuição de CIMs: BAC, CPC e CTAB, de 16-64, 8-32 e 8-32 µg/ml, respectivamente. Estes valores obtidos para os três QACs mostram que são maiores em relação aos valores obtidos com a cepa controle utilizada neste estudo **Tabela 7.1**, com exceção de algumas cepas que apresentaram valores iguais ou menores. Destaca-se que o único isolado de origem ambiental foi quem apresentou valores elevados para os três compostos.

Os resultados da identificação *in silico* dos genes de resistência aos QACs revelou os seguintes genes: *mdfA* identificado em 8 (100%) cepas avaliadas (assim como também na cepa controle) e os genes *qacE*, e *qacEΔ1*, em três cepas. As similaridades analisadas pelo programa online BLASTx foram consideradas acima de 98.78 - 100%. A presença dos genes identificadas nas análises *in silico*, foram confirmadas a concordância pelo método de PCR convencional.

Tabela 7. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs *in silico* e PCR das cepas de *Enterobacter* spp.

Espécie (n) Origem (n)	Distribuição de CIM (µg/ml)									Nº de cepas	Genes <i>qac in silico</i> /PCR		
	BAC			CPC			CTAB				<i>mdfA</i>	<i>qacE</i>	<i>qacEΔ1</i>
	16	32	64	8	16	32	8	16	32				
<i>Enterobacter</i> spp. (n =8)	1	5	2	1	5	2	1	2	5	8/8	8/8	3/3	3/3
Humano (n =5)		5			5			2	3	5/5	5	2	2
Animal (n =1)			1			1			1	1/1	1		
Ambiente (n =1)			1			1			1	1/1	1	1	1
Alimento (n =1)	1			1			1			1/1	1		

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de Cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Reação em cadeia da polimerase (PCR).

Tabela 7.1. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$), e genes de resistência aos QACs, da cepa controle ATCC.

Identificação	Espécie	Triplicata de CIM (µg/ml)									PCR
		BAC			CPC			CTAB			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	
ATCC13048	<i>K. aerogenes</i>	16	16	32	8	8	8	16	16	16	<i>mdfA</i>

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de Cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Reação em cadeia da polimerase (PCR).

4. 5 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *Pseudomonas* spp.

Os resultados das 10 cepas de *Pseudomonas* spp avaliadas pertencentes as diferentes origens (humano, animal, ambiente) são apresentados na **Tabela 8**. Apresentaram uma distribuição de CIMs, para BAC, CPC e CTAB, de 64-512, 8-256 e 16-512 µg/ml, respectivamente. A maioria são iguais ou maiores quando comparados com as cepas ATCC, para os três compostos mostrados na **Tabela 8.1**, com exceção de algumas cepas que apresentaram CIM mais baixos que a ATCC.

Em relação aos resultados da análise *in silico* dos genes de resistência aos QACs, foram identificados genes descritos na literatura como plasmidiais como: *qacE* e *qacEΔ1* em 8 (80%) das cepas, e os genes *qacF*, *qacH* e *qacL* foram encontradas em 3 (30%). Também foi identificado um gene cromossômico denominado de *mdfA* em 1 (10%) cepa, e apenas 2 (20%) cepas de origem humano não apresentaram nenhum dos 14 genes de resistência aos QACs pesquisados neste estudo. As análises das similaridades pelo programa *online* BLASTx foram consideradas a partir de 94,55-100%. Os resultados obtidos na identificação dos genes *qac* pelo método de PCR convencional, corroboraram com as encontradas pela identificação *in silico*. Por outro lado as cepas ATCC utilizadas como controle neste estudo não apresentaram nenhum gene de resistência aos QACs.

Tabela 8. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs *in silico* e PCR das cepas de *Pseudomonas* spp.

Espécie (n) Origem	Distribuição de CIM (µg/ml)													Nº de cepas	Análise <i>in silico</i> dos genes <i>qac</i> /PCR					
	BAC					CPC					CTAB				<i>mdfA</i>	<i>qacE</i>	<i>qacEA1</i>	<i>qacF</i>	<i>qacH</i>	<i>qacL</i>
	64	128	256	512	8	64	128	256	16	32	128	256	512							
<i>Pseudomonas</i> spp. (n =10)	2	4	3	1	2	1	2	3	1	1	1	4	3	8/10	1/1	8/8	8/8	3/3	3/3	3/3
Humano (n =6) *	2	3	1		2	1	2	1	1	1		3	1	4	1	4	4	1	1	1
Animal (n =1)			1					1					1	1		1	1	1	1	1
Ambiente (n =3)		1	1	1			2	1			1	1	1	3		3	3	1	1	1

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Reação em cadeia da polimerase (PCR).

Tabela 8.1. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$), e genes de resistência aos QACs, das cepas controle

Identificação	Espécie	Triplicata de CIM (µg/ml)									Genes <i>qac</i> <i>in silico</i>
		BAC			CPC			CTAB			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	
ATCC 27853	<i>P. aeruginosa</i>	64	64	128	64	64	64	128	128	128	-
ATCC 15442	<i>P. aeruginosa</i>	64	64	64	64	64	64	128	128	128	-
PA01	<i>P. aeruginosa</i>	128	128	128	128	128	128	256	256	256	-

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Reação em cadeia da polimerase (PCR).

4. 6 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *Salmonella* spp.

Os resultados das 17 cepas de *Salmonella* spp avaliadas pertencentes as diferentes origens (humano, animal, e alimento) são apresentados na **Tabela 9**. Evidenciaram uma distribuição de CIMs para BAC, CPC e CTAB, de 16-64, 8-32 e 16-128 µg/ml, respectivamente. A maioria dos quais apresentaram valores iguais as obtidas com as cepas ATCC controle **Tabela 9.1**, para os três QACs, com exceção de apenas uma cepa de origem alimentícia que apresentou CIM alto para CTAB.

Em relação aos resultados da identificação *in silico* dos genes aos QACs, foi observada a presença do gene *mdfA* em todas as 17 (100%) cepas e em duas cepas ATCC controle, já o gene *sugE(p)* foi identificado em 5 (29,41%) cepas e os genes *qacE* e *qacEΔ1* em 7 (41,1%) cepas. As análises das similaridades pelo programa *online* BLASTx foram consideradas apartir de 99,76-100%. Os resultados obtidos pelo metodo de PCR convencional, na identificação de genes de resistência aos QACs, corroboraram a concordancia com as encontradas pela analise *in silico*, com exceção do gene *sugE(p)*, para a qual não foi desenhado *primers*.

Tabela 9. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs *in silico* e PCR das cepas de *Salmonella* spp.

Espécie (n) Origem (n)	Distribuição de CIM (µg/ml)										Nº de cepas	Genes qac <i>in silico</i> /PCR			
	BAC			CPC			CTAB					<i>mdfA</i>	<i>qacE</i>	<i>qacEΔ1</i>	<i>sugE(p)</i>
	16	32	64	8	16	32	16	32	64	128					
<i>Salmonella</i> spp. (n =17)	1	4	12	2	6	9	1	6	9	1	17/17	17/17	7/7	7/7	5
Humano (n =2)		2		1	1		1	1			2/2	2	1	1	
Animal (n =1)	1				1			1			1/1	1	1	1	
Alimento (n =14)		2	12	1	4	9		4	9	1	14/14	14	5	5	5

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de Cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Tradução da sequência de nucleotídeos em proteína (BLASTx), Reação em cadeia da polimerasa (PCR).

Tabela 9.1. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$), e genes de resistência aos QACs, das cepas controle

Identificação	Espécie	Triplicata de CIM (µg/ml)									Genes <i>qac in silico</i>	PCR
		BAC			CPC			CTAB				
		1	2	3	1	2	3	1	2	3		
ATCC14028	<i>S. Typhimurium</i>	32	32	32	32	32	32	64	64	64	<i>mdfA</i>	<i>mdfA</i>
ATCC 10708	<i>S. Choleraesuis</i>	64	64	32	32	32	16	32	32	32	-	
ATCC 13076	<i>S. Enteritidis</i>	16	16	16	8	8	8	16	16	8	<i>mdfA</i>	<i>mdfA</i>
ATCC 6537	<i>S. Typhi</i>	64	64	64	16	16	16	64	64	64		-

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de Cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Reação em cadeia da polimerasa (PCR).

4. 7 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *Acinetobacter baumannii*.

Os resultados das 11 cepas de *Acinetobacter baumannii*, pertencentes as diferentes origens (humano e ambiente) são apresentandos na **Tabela 10**. Evidenciaram os seguintes valores de distribuição de CIMs para BAC, CPC e CTAB, de 16-32, 4-16 e 4-16 µg/ml, respectivamente. Estes valores mostram que são iguais ou maiores em comparação as obtidas com a cepa controle utilizada neste estudo **Tabela 10.1**, com exceção de poucas cepas que apresentaram valores mais baixos.

Em relação aos resultados, da avaliação *in silico* dos genes de resistência, não foram identificadas nenhum gene de resistência aos QACs, dentre os 14 genes pesquisados neste estudo nas 11 cepas estudadas, nem na cepa ATCC 19606, que foi utilizada como controle.

Tabela 10. Distribuição de concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) dos QACs, por microdiluição em caldo, e identificação dos genes de resistência para QACs *in silico* e PCR das cepas de *Acinetobacter baumannii*.

Espécie (n) Origem	Distribuição de CIM (µg/ml)								Nº de cepas	Genes qac <i>in silico</i>
	BAC		CPC		CTAB					
	16	32	4	8	16	4	8	16		
<i>A. baumannii</i> (n =11)	5	6	3	7	1	1	2	8	11/11	-
Humano (n =10)	5	5	3	6	1	1	2	7	10/10	-
Ambiente (n =1)		1		1				1	1/1	-

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de Cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), não foi identificado nenhum gene de resistência aos QACS (-).

Tabela 10.1. Concentração inibitória mínima CIM ($\mu\text{g/ml}$) e genes de resistência aos QACs da cepa controle

Tabela 10-11 Concentração mínima inibidora CIM (µg/ml) e genes de resistência aos QACs da cepa control											
Identificação	Espécie	Triplicata de CIM (µg/ml)									Genes qac <i>in silico</i>
		BAC			CPC			CTAB			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	
ATCC 19606	<i>A. baumannii</i>	16	16	16	8	8	8	16	16	16	-

Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), não foi identificado nenhum gene de resistência aos QACS (-).

4. 8 Análise da concentração inibitória mínima CIM₉₀ e CIM₅₀ dos QACs para todas as espécies estudadas

Os resultados das concentrações inibitórias mínimas, capazes de inibir 50% e 90% dos três QACs, determinados em triplicata pelo método de microdiluição em caldo, para as 100 cepas pertencentes das diferentes espécies (*K. pneumoniae* n=24, *E. coli* n =30, *Enterobacter* spp n=8, *Pseudomonas* spp n =10, *Salmonella* spp n = 17, e *A. baumannii* n =11), estão apresentados na (Tabela 11). Os valores refletem CIMs elevadas, principalmente para a maioria das cepas de *Pseudomonas* spp, seguido das cepas de *Salmonella* spp, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp, *A. baumannii* e *E. coli* respectivamente.

Tabela 11. Concentração inibitória mínima CIM 90% e CIM50% (µg/ml) dos QACs, por microdiluição em caldo, das 100 cepas avaliadas por espécie.

Especie	Nº de cepas	CIM ₉₀ (µg/ml)			CIM ₅₀ (µg/ml)		
		BAC	CPC	CTAB	BAC	CPC	CTAB
<i>K. pneumoniae</i>	24	64	32	32	32	16	32
<i>E. coli</i>	30	32	8	16	32	4	16
<i>Pseudomonas</i> spp	10	256	256	512	128	128	256
<i>Enterobacter</i> spp	8	64	32	32	32	16	32
<i>Salmonella</i> spp	17	64	32	64	64	16	64
<i>A.baumannii</i>	11	32	8	16	32	8	16

*As seções marcadas em cinza apresentam resultados de valores de CIM90 e CIM50 geral das 100 cepas para os três QACs, Cloreto de benzalcônio (BAC), Cloreto de cetilpiridínio (CPC) e Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB).

4. 9 Genótipos de resistência distribuídos em todas as espécies estudadas

Á análise *in silico* dos 100 genomas avaliados neste estudo demonstrou a presença dos seguintes genes de resistência aos QACs: *mdfA* (77%), *qacE* (44%), *qacEΔ1* (43%), *sugE(c)* (29%), *emrE* (21%), *qacA* (19%), *sugE(p)* (5%), *qacF* (7%), *qacH* (7%) e *qacL* (7%) em 85 cepas. Já nas outras 15 cepas (*A. baumannii* n=11, *E. coli* n=2 e *P. aeruginosa* n=2) não foi identificado nenhum dos 14 genes de resistência pesquisados aos QACs neste. A confirmação dos genes mais frequentes, *mdfA* (77%), *qacE* (44%), *qacEΔ1* (43%), apresentaram uma concordância total com a identificação *in silico* (**Tabela 12**). Destacando que as cepas de *E. coli*, são as que apresentaram uma alta frequência de genes de resistência aos QACs denominados na literatura como cromosômicos como o *mdfA*, *emrE* e *sugE(c)* também foi observado que três cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, apresentaram uma maior frequência de genes de resistência descritos na literatura como genes codificados por plasmídeos tais como *qacE*, *qacEΔ1*, *qacF*, *qacH*, e *qacL*. Assim também foi observado que alguns genes foram encontrados só em determinadas espécies bacterianas, como o gene *qacA*, que foi encontrado apenas em 19 cepas de *K. pneumoniae*, os genes *emrE* foi encontrada apenas em 21 cepas de *E.coli*, o gene *sugE(c)* foi encontrada apenas em uma cepa *K. pneumoniae*, e 28 cepas de *E.coli*, e o gene *sugE(p)*, foi encontrado só em cinco cepas de *Salmonella* spp.

Tabela 12. Resultados de distribuição de genes de resistência aos QACs, por identificação *in silico*/PCR das 100 cepas.

Especie	Nº de cepas	Análise <i>in silício</i> dos genes qac /PCR%									
		<i>sugE(c)</i>	<i>emrE</i>	<i>mdfA</i>	<i>qacA</i>	<i>qacE</i>	<i>qacEΔ1</i>	<i>qacF</i>	<i>sugE(p)</i>	<i>qacH</i>	<i>qacL</i>
<i>K. pneumoniae</i>	24	1	-	24/24	19	14/14	13/13	1	-	1	1
<i>E. coli</i>	28/30	28	21	27/27	-	12/12	12/12	3	-	3	3
<i>Pseudomonas</i> spp	8/10	-	-	1/1	-	8/8	8/8	3	-	3	3
<i>Enterobacter</i> spp	8	-	-	8/8	-	3/3	3/3	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> spp	17	-	-	17/17	-	7/7	7/7	-	5	-	-
<i>A.baumannii</i>	0/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Análise geral	100	*29%	*21%	*77/77%	*19%	*44/44%	*43/43%	*7%	*5%	*7%	*7%

* As seções marcadas em cinza apresentam resultados, de distribuição de genes de resistência aos QACs, das 100 cepas analisados *in silico* e para os genes *mdfA*, *qacE* e *qacΔ1* confirmados pelo método de PCR convencional.

5. DISCUSSÃO

O presente trabalho tem focado em caracterizar cepas multirresistentes classificadas como patógenos prioritários pela OMS (OMS, 2017), quanto ao fenótipo e genótipo de resistência aos QACs. Dentro das espécies incluídas foram selecionadas *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* produtoras de carbapenemases e dentre as *Enterobacteriaceae* foram incluídas cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp, e *Escherichia coli* produtoras de carbapenemases e/ou ESBL. No caso de *Salmonella* spp. foram selecionadas cepas resistentes às fluoroquinolonas e/ou produtoras de ESBLs ou pAmpC. Neste contexto, é importante considerar que para melhorar o controle destas infecções é primordial utilizar medidas de higiene apropriadas. Para isto, o uso de desinfetantes tem sido essencial (SANTA BÁRBARA et al., 2012). Curiosamente, embora desinfetantes tenham sido amplamente utilizados em nível hospitalar e comunitário, as concentrações de uso de cada composto variam de acordo com a finalidade com que serão utilizados. Por exemplo, o BAC quando utilizado na desinfecção de superfícies no ambiente hospitalar, a concentração recomendada de uso é de 1% (PARLATO; VITAL, 1972). O CPC que é um dos componentes principais utilizadas na formulação do cepacol para seu uso como antisséptico bucal contém 0,5 mg/ml, e existem pastilhas contendo 1,34mg de CPC, para combater halitose. Assim como também o CTAB, utilizado para isolamento de DNA numa concentração ao 2% (SANTOS; ARAÚJO, 2017). No entanto não existe informação concisa que permita avaliar a situação atual da resistência para estes compostos. Muito provavelmente a falta de métodos padronizados para avaliar QACs e consequentemente a ausência de critérios interpretativos para definir resistência ou sensibilidade para estes compostos têm contribuído para este problema. Da mesma forma, a investigação dos determinantes de resistência para QACs têm sido negligenciados.

5. 1 Padronização de métodos de suscetibilidade para avaliação dos QACs

Durante o levantamento bibliográfico, foram encontrados poucos trabalhos com informação de valores de CIM dos QACs para cepas ATCC, quando avaliadas pelo método de diluição em ágar. Para *E. cloacae* ATCC 13047, tem sido reportada uma CIM de 128 µg/ml para CPC, e 256 µg/ml para CTAB (He et al., 2011). No presente estudo, foi utilizada a cepa de *K. aerogenes* ATCC 13048, para a qual foi obtida uma CIM de 256 µg/ml para CPC, e 512 µg/ml para CTAB (**Tabela 3**).

Zou e colaboradores (2014) num estudo que também avaliaram os QACs pelo método de diluição em ágar utilizaram como controle a cepa de *E. coli* ATCC 10536 e reportaram uma CIM de 64 µg/ml para CPC e 64 µg/ml para CTAB. No presente estudo, para a cepa de *E. coli* ATCC 8739, foram obtidos valores de CIM semelhantes para CPC e maior para CTAB (**Tabela 3**).

Um fator limitante para uso do método de diluição em ágar tem sido o fato de que QACs possuem níveis diferentes de saturação que dificultam sua solubilização em meio sólido (BUFFET-BATALLON, et al., 2012) e, de fato, a padronização deste método para cepas ATCC resultou em falta de reprodutibilidade. Portanto, optamos pela utilização do método de microdiluição em caldo, devido à sua melhor reprodutibilidade (**Tabela 4**).

5. 2 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *K. pneumoniae*

Abuzaid e colaboradores (2012), observaram uma associação entre a presença de genes que codificam bombas de efluxo que exportam desinfetantes e uma menor resistência a antibióticos em cepas clínicas de *K. pneumoniae* de origem humana. As cepas avaliadas por esses autores apresentaram susceptibilidade reduzida ao composto BAC (CIM entre 16-64 µg/ml) e possuíam os genes *qacEAI* e *qacE*, porém, não carregavam genes de resistência a

antibióticos. Interessantemente, no presente estudo as 12 cepas de *K. pneumoniae* de origem humana avaliadas foram multiresistentes aos antibióticos e apresentaram uma faixa de CIM de 16-128 µg/ml para BAC. A análise genômica dessas cepas demonstrou também a presença desses genes *qacEΔ1* e *qacE*. Na literatura a presença desses dois genes está relacionada a CIMs elevadas para QACs (POOLE., 2005). Além desses genes, também foram encontrados outros como *qacA*, responsável por codificar uma bomba de efluxo que medeia resistência a diferentes desinfetantes, incluindo os catiônicos monovalentes como os QACs (GUO et al., 2015). A presença do gene *qacH* em Gram-negativos, além de conferir resistência aos QACs, indica a disseminação de genes de resistência a desinfetantes e antimicrobianos entre espécies bacterianas (JIANG et al., 2017). Infelizmente, não há descrição na literatura para interpretar a presença dos genes *mdfA*, *qacF* e *qacL* em cepas de *K. pneumoniae* avaliadas neste estudo.

5. 3 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *E. coli*

Beier e colaboradores (2016) avaliaram a atividade de QACs em cepas de *E. coli* de origem humana e animal e os resultados das CIM, obtidos pelos autores para as cepas de origem humana, foram de 4-32 µg/ml para BAC, 4-16 µg/ml para CPC, e 2-32 µg/ml para CTAB; já os resultados das CIM nas cepas de origem animal foram de 8-32 µg/ml para BAC, 4-16 µg/ml para CPC e 16-32 µg/ml para CTAB. Estes resultados levaram os autores a concluir que cepas de ambas origens apresentam baixas CIMs para BAC.

Deus e colaboradores (2017) realizaram um estudo com cepas de *E. coli* produtoras de ESBL de origem humana e aviária, das quais duas cepas de origem humana apresentaram CIMs de 32 µg/ml para BAC, o que foi interpretado como suscetibilidade reduzida. Além disso, foram identificados nessas cepas os genes de resistência *qacEΔ1*, *emrE*, *mdfA*, *sugE(c)* e *sugE(p)*, o que levou os autores a concluir que a presença desses genes está relacionada à diminuição da

suscetibilidade. Corroborando esses relatos, no presente estudo, as cepas de *E. coli* isoladas de humanos e animais, e de ambiente marinho ou alimentos, apresentaram CIMs de 8-32 µg/ml para BAC. A análise *in silico* demonstrou a presença dos genes *qacEΔ1*, *emrE*, *mdfA*, *sugE(c)*, e outros como *qacE*, *qacF*, *qacH*, *qacF* e *qacL*. Segundo POOLE, (2005), ZOU et al. (2014) e WU et al. (2015), a presença de alguns desses genes *qac* encontrados neste estudo está relacionada a CIMs elevadas para os QACs BAC, CPC e CTAB.

5. 4 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *Pseudomonas* spp.

BEIER e colaboradores (2015) realizaram um estudo de caracterização dos perfis de sensibilidade aos antibióticos e 24 desinfetantes em cepas de origem veterinária, de *Pseudomonas aeruginosa*. Foi demonstrada uma elevada resistência aos antibióticos e desinfetantes como triclosan, clorexidina e cloreto de benzalcônio. Este ultimo é o principal componente da maioria dos desinfetantes utilizados em clínicas veterinárias. Os resultados das CIMs obtidos pelos autores foram os seguintes: BAC 32 - > 256 µg/ml, CPC 64 - > 256 µg/ml, e CTAB 64 - > 256 µg/ml e os categorizaram como sensibilidade reduzida. Interessantemente, no presente estudo, 10 cepas de *Pseudomonas* spp de diferentes origens analisadas neste estudo apresentaram valores similares, categorizadas como sensibilidade reduzida. As faixas de CIM, obtidas em nosso estudo foram de 64-512 µg/ml para BAC, 8-256µg/ml para CPC e 16-512µg/ml para CTAB. Além disso, nós identificamos os genes de resistência aos QACs, dos 10 genomas de *Pseudomonas* spp, das quais duas cepas não apresentaram nenhum gene *qac*, enquanto as outras 8 possuíam pelo menos um gene. Assim identificamos os genes *qacEΔ1*, *qacE* e *qacF*, que estão correlacionados a CIMs elevadas para BAC, CPC e CTAB (WU et al., 2015; JENNINGS et al., 2015 ; POOLE., 2005; MAHZOUNIEH et al., 2014), o gene *qacH*, que está associado a integrons de Classe 1, frequentemente observado em bactérias Gram-

negativas, indicando a disseminação de genes de resistência a desinfetantes e antimicrobianos entre espécies bacterianas (JIANG et al., 2017). Além desses genes mencionados, também encontramos os genes *qacL* e *mdfA*, cuja função dos mesmos em efeito ainda não foram descritos na literatura em cepas de *P. aeruginosa*.

Interessantemente, apenas três cepas de *P. aeruginosa* pertencentes ao ST233, recuperadas da interface humana-ambiente-animal, carregavam os genes *qacF*, *qacH* e *qacL*, e foram as que apresentaram MICs mais elevadas para os três QACs avaliados neste estudo.

5. 5 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *Salmonella* spp.

CHUANCHUEN e colaboradores (2006) avaliaram a ocorrência dos genes *qacE* e *qacEΔ1* e sua correlação com integrons classe 1 em cepas de *Salmonella enterica* provenientes de aves e suínos, reportaram a ausência do gene *qacE* e uma alta ocorrência do gene *qacEΔ1*, confirmando que este gene está ligado aos integrons. Os valores das CIMs foram elevados (8-256 µg/ml) para BAC independentemente da presença ou não do gene *qacEΔ1*. No presente estudo avaliamos 17 cepas de *Salmonella* spp. pertencentes a diferentes origens sendo a maioria isolados a partir de alimentos de cortes de carnes aves e suínos, e identificamos também a presença dos genes *qacEΔ1* e *qacE* em 7 cepas e apresentaram CIM para BAC de 16-64 µg/ml.

5. 6 Concentração inibitória mínima dos QACs e genótipos de resistência para as cepas de *A. baumannii*.

Em um estudo de distribuição de genes de resistência aos biocidas em 24 cepas de *Acinetobacter baumannii* de origem humano resistentes a múltiplas drogas, VIJAYAKUMAR

e colaboradores (2018), identificaram genes *qac* em 12 cepas (*qacA* 54,2% e *qacE* 16,7%) que apresentaram valores de CIMs para BAC e CTAB, de 8-32 e 32-128 µg/ml, respectivamente. Para as outras 12 cepas que não carregavam genes QACs, as CIMs obtidas foram de 8-16 e 32-64 µg/ml para BAC e CTAB, respectivamente. Assim, estes últimos valores foram interpretados como sensibilidade não reduzida.

No presente estudo, foram avaliadas 10 cepas de *A. baumannii* de origem humana, resistentes aos carbapenêmicos, que apresentaram valores de CIM para BAC e CTAB na faixa de 16-32 e 4-16 µg/ml, respectivamente. Em nenhuma delas foi identificada a presença de genes de resistência aos QACs dentre os 14 genes pesquisados neste estudo.

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, utilizando o método de microdiluição em caldo, foi observada uma diminuição da suscetibilidade aos QACs nas cepas testadas, com relação às cepas ATCC. Na análise dos genomas *in silico*, em *Enterobacteriaceae* e em *Pseudomonas* spp. foi confirmada a presença de pelo menos um gene de resistência aos QACs.

As limitações do estudo foram relacionadas à falta de um método de referência, assim como a inexistência de pontos de corte que definem resistência ou suscetibilidade para determinados QACs. Por outro lado, para alguns genes de resistência identificados no presente estudo, não foi possível encontrar literatura científica referente a sua funcionalidade. Finalmente, é altamente provável que muitos dos genes depositados na base de dados GenBank não estejam adequadamente curados e anotados.

Estes resultados sugerem que a resistência em patógenos prioritários, que circulam na interface humano-ambiente-animal, não é restrita apenas aos antibióticos, uma vez que a elevada ocorrência de genes *qacE*, *qacEΔ1* e *mdfA* foi associada com uma redução da susceptibilidade para QACs. Consequentemente, a resistência aos QACs poderia também contribuir para a persistência e adaptação destes patógenos em ambientes antropogenicamente impactados.

No todo, fica evidente que em relação à resistência aos QACs falta muita informação a ser esclarecida. Portanto, dado o amplo uso de desinfetantes em nível domiciliar e hospitalar, pesquisas relacionadas devem ser priorizadas.

6. CONCLUSÃO

- Na padronização da determinação de CIM, a metodologia microdiluição em caldo foi quem apresentou melhor reprodutibilidade comparado com a diluição em agar.
- A identificação *in silico* dos genes de resistência aos QACs demonstrou uma frequência maior dos genes *qacE* (44%), *qacEΔ1* (43%) e *mdfA* (77%), a positividade dos mesmos foram corroborados pelo método de PCR convencional.
- Foi observada uma redução de susceptibilidade considerável, para os três compostos testados neste estudo, principalmente em cepas que apresentaram uma maior frequência de genes de resistência classificados na literatura como aqueles codificados por plasmídeos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELAZIZ, A.; SONBOL, F.; ELBANNA, T.; EL-EKHNAWY, E. Exposure to sublethal concentrations of benzalkonium chloride induces antimicrobial resistance and cellular changes in *Klebsiellae Pneumoniae* clinical isolates. **Microbial Drug Resistance**, v. 00, n. 00, p. 1–8, 2019.

ABUZAID, A.; HAMOUD, A.A.; AMYES, S.G. *Klebsiella pneumoniae* susceptibility to biocides and its association with *cepA*, *qacAE* and *qacE* efflux pump genes and antibiotic resistance. **Jornal of Hospital Infection**, v.81 n.2, p. 87-91, 2012.

AHMAD, I.; NAWAZ, N.; DERMANI, FK.; KOHLAN, A.K.; SAIDIJAM, M.; PATCHING, S. G. Bacterial multidrug efflux proteins: a major mechanism of antimicrobial resistance. **Current Drug Targets**, 2018.

AMOS, G. C. A.; PLOUMAKIS, S.; ZHANG, L.; HAWKEY, P. M.; GAZE, W. H.; WELLINGTON, E. M. H. The widespread dissemination of integrons throughout bacterial communities in a riverine system. **ISME Journal**, v. 12, n. 3, p. 681–691, 2018.

ANTOCHEVIS, L. C.; MAGAGNIN, C. M.; NUNES, A. G.; GOULART, T. M; MARTINS, A. S.; CAYÔ, R.; GALES, A. C.; BARTH, A. L.; ZAVASCKI, A. P. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from Brazilian hospitals: what (still) remains active? **Jornal Global Antimicrobial Resistance**, v. 15, p.173-177, 2018.

ANVISA - Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Saneantes. Portaria N° 15 23-08- 1988.

BASSETTI, M.; PEGHIN, M.; PECORI, D. The management of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 29, n. 6, p. 583-594, 2016.

BAZINA, L.; MARAVIĆ, A.; KRCE, L.; SOLDÓ, B.; ODŽAK, R.; POPOVIĆ, V. B.; AVIANI, I.; PRIMOŽIČ, I.; ŠPRUNG, M. Discovery of novel quaternary ammonium compounds based on quinuclidine-3-ol as new potential antimicrobial candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 163, p. 626–635, 2019.

BEIER, R. C.; FOLEY, S. L.; DAVIDSON, M. K.; WHITE, D. G.; MCDERMOTT, P. F.; BODEIS-JONES, S.; ZHAO, S.; ANDREWS, K.; CRIPPEN, T. L.; SHEFFIELD, C. L.; POOLE, T. L.; ANDERSON, R. C.; NISBET, D. J. Characterization of antibiotic and disinfectant susceptibility profiles among *Pseudomonas Aeruginosa* veterinary isolates recovered during 1994-2003. **Journal of Applied Microbiology**, v. 118, n. 2, p. 326–342, 2015.

BEIER, R. C.; FRANZ, E.; BONO, J. L.; MANDRELL, R. E.; FRATAMICO, P. M.; CALLAWAY, T. R.; ANDREWS, K.; POOLE, T. L.; CRIPPEN, T. L.; SHEFFIELD, C. L.; ANDERSON, R. C.; NISBET, D.J. Disinfectant and antimicrobial susceptibility profiles of the big six non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from food animals and humans. **Journal of Food Protection**, v. 79, n. 8, p. 1355–1370, 2016.

BUFFET-BATAILLON, S.; TATTEVIN, P.; BONNAURE-MALLET, M.; JOLIVET-GOUGEON, A. Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds - a critical review. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 39, n. 5, p. 381–389, 2012.

CASELLA, T.; RODRÍGUEZ, MM.; TAKAHASHI, J. T.; GHIGLIONE, B.; DROPA, M.; ASSUNÇÃO, E.; NOGUEIRA, ML.; LINCOPAN, N.; GUTKIND, G.; NOGUEIRA, M. C. Detection of *bla*_{CTX-M}-type genes in complex class 1 integrons carried by Enterobacteriaceae isolated from retail chicken meat in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 197, p. 88–91, 2015.

CAYÔ, R.; STRELING, A. P.; NODARI CS, MATOS, A. P.; DE PAULA LUZ, A.; DIJKSHOOR, N. L.; PIGNATARI, A. C. C.; GALES, A. C. Occurrence of IMP-1 in non-*baumannii* *Acinetobacter* clinical isolates from Brazil. **Jornal of Medical Microbiology**, v. 67, n. 5, p.628-630, 2018.

CHAIDEZ, C.; LOPEZ, J.; CASTRO-DEL, CAMPO. N. Quaternary ammonium compounds: an alternative disinfection method for fresh produce wash water. **Journal of Water and Health**, v.5, n.2, p. 329-333, 2007.

CHAPMAN, P.A.; ELLIN, M.; ASHTON, R.; SHAFIQUE, W. Comparison of culture, PCR and immunoassays for detecting *Escherichia coli* O157 following enrichment culture and immunomagnetic separation performed on naturally contaminated raw meat products. **Journal of Food Microbiology**. v. 68, n. 1, p. 11-20, 2001.

CHUANCHUEN, R.; KHEMTONG, S.; PADUNGTOD, P.; MAI, C. Occurrence of *Qac E/ QacE Δ I* genes and their correlation with class 1 integrons in *Salmonella* Enterica isolates. **The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 38, n. 5, p. 855–862, 2006.

CERDEIRA, L. T.; ESPOSITO, F.; LAM, M. M. C.; WYRES, K. L.; WICK, R. R.; JUDD, L. M.; CUNHA, M. V; RIBAS, R. M.; CIFUENTES, S.; TAMARIZ, J.; BUENO, M. F. C.; FRANCISCO, G. R.; GARCIA, D. O.; GONZALEZ-ROCHA, G.; GUTKIND, G.; HOLT, K. E.; LINCOPAN, N.; GERAIS, M.; BACTERIOLOGIA, C. De; LUTZ, A.; AIRES, B.; KINGDOM, U. Yersiniabactin, colibactin and wider resistome contribute to enhanced virulence and persistence of KPC-2-Producing *Klebsiella Pneumoniae* CG258 in South America. **BioRxiv**, p1-32, 2018 (no prelo).

CLARKE, J. D. Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) DNA Miniprep for plant DNA isolation. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 4, n. 3, p. 5177–5179, 2009.

DEUS, D.; KRISCHEK, C.; PFEIFER, Y.; SHARIFI, A. R.; FIEGEN, U.; REICH, F.; KLEIN, G.; KEHRENBURG, C. Comparative analysis of the susceptibility to biocides and heavy metals of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia Coli* isolates of human and avian origin, Germany. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 88, n. 1, p. 88–92, 2017.

DOMAGK, G. Eine neue klasse von desinfektionsmitteln. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v.61, n p.829-832, 1935.

EDLIND, M. P.; SMITH, W. L.; EDLIND, T. D. Effects of cetylpyridinium chloride resistance and treatment on fluconazole activity versus *Candida albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 2, p. 843–845, 2005.

FERNANDES, M. R.; SELLERA, F. P.; MOURA, Q.; SOUZA, T. A.; LINCOPAN, N. Draft genome sequence of a CTX-M-8, CTX-M-55 and FosA3 Co-Producing *Escherichia Coli* ST117/B2 isolated from an asymptomatic carrier. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 12, n p. 183–184, 2018b.

FERNANDES, M. R.; MCCULLOCH, J. A.; VIANELLO, M. A.; MOURA, Q.; PÉREZ-CHAPARRO, P. J.; ESPOSITO, F.; SARTORI, L.; DROPA, M.; MATTÉ, M. H.; LIRA, D. P. A.; MAMIZUKA, E. M. First report of the globally disseminated IncX4 plasmid carrying the *mcr-1* gene in a colistin-resistant *Escherichia coli* sequence type 101 isolate from a human infection in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 10, p. 6415–6417, 2016.

FERNANDES, M. R.; SELLERA, F. P.; ESPOSITO, F.; SABINO, C. P.; CERDEIRA, L.; LINCOPAN, N.; Colistin-resistant *mcr-1*-positive *Escherichia coli* . **Antimicrobial Agents Chemotherapy**. v. 27, n. 61, p. 7, 2017.

FERNANDES, M. R.; SELLERA, F. P.; MOURA, Q.; CARVALHO, M. P. N.; ROSATO, P. N.; CERDEIRA, L.; LINCOPAN, N. Zooanthroponotic transmission of drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, Brazil. **Emergence Infectious Disease**. v. 24, n. 6, p.1160-1162. 2018.

FERNANDES, M. R.; SELLERA, F. P.; MOURA, Q.; GASPAR, V. C.; CERDEIRA, L.; LINCOPAN, N. International high-risk clonal lineages of CTX-M-producing *Escherichia coli* F-ST648 in free-roaming cats, South America. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 66, p. 48–51, 2018.

GAN, L.; LU, Z.; CAO, D.; CHEN, Z. Effects of cetyltrimethylammonium bromide on the morphology of green synthesized Fe₃O₄ nanoparticles used to remove phosphate. **Materials Science and Engineering C**, v. 82, p. 41–45, 2018.

GERBA, C. P. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 2, p. 464–469, 2015.

GUO, W.; SHAN, K.; XU, B.; LI, J. Determining the resistance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* to common disinfectants and elucidating the underlying resistance mechanisms . **Pathogens and Global Health**, v. 109, n. 4, p. 184–192, 2015.

HAGAN, H. H.; MAGUIRE, C. H.; MILLER, W. H. Cetylpyridinium chloride as a cutaneous germicide in major surgery; a comparative study. **Arch Surgery**. v. 52, p. 149-59, 1946.

HE, G. X.; ZHANG, C.; CROW, R. R.; THORPE, C.; CHEN, H.; KUMAR, S.; TSUCHIYA, T.; VARELA, M. F. *SugE*, a new member of the SMR family of transporters, contributes to antimicrobial resistance in *Enterobacter cloacae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 8, p. 3954–3957, 2011.

HEGSTAD, K.; LANGSRUD, S.; LUNESTAD, B. T.; SCHEIE, A. A.; SUNDE, M.; YAZDANKHAH, S. P. Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health? **Microbial Drug Resistance**. v. 16, n. 2, p. 91-104. 2010.

JACOBS, W.A. The bactericidal properties of the quaternary salts of hexamethylenetetramine: I. the problem of the chemotherapy of experimental bacterial infections. **Jornal of Experimental Medicine**. v.23, p. 563 - 568. 1916.

JENNINGS, M.C.; MINIOLE, K. P.; WUEST, W. M. Quaternary ammonium compounds: an antimicrobial mainstay and platform for innovation to address bacterial resistance. **ACS Infectious Diseases**, v. 1, n. 7, p. 288-303, 2015.

JIANG, X.; YU, T.; LIANG, Y.; JI, S.; GUO, X.; MA, J.; ZHOU, L. Efflux pump-mediated benzalkonium chloride resistance in *Listeria monocytogenes* isolated from retail food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 217, p. 141–145, 2015.

JIANG, X.; XU, Y.; LI, Y.; ZHANG, K.; LIU, L.; WANG, H.; TIAN, J.; YING, H.; SHI, L.; YU, T. Characterization and horizontal transfer of *qacH*-associated class 1 integrons in *Escherichia coli* isolated from retail meats. **International Journal of Food Microbiology**, v. 3, n. 258, p.12-17. 2017.

JIN, Y.; DENG, J.; LIANG, J.; SHAN, C.; TONG, M. Efficient bacteria capture and inactivation by cetyltrimethylammonium bromide modified magnetic nanoparticles. **Colloids Surf B Biointerfaces**., v.1. n.136, p.659-665, 2015.

LINCOPAN, N.; MCCULLOCH, J. A.; REINERT, C.; GALES, A. C.; MAMIZUKA, E. M. First isolation of metallo-beta lactamase-producing multiresistant *Klebsiella pneumoniae* from a patient in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 43, n. 1, p. 516–519, 2005.

LIU, J.; LING, J. Q.; WU, C. D. Cetylpyridinium chloride suppresses gene expression associated with halitosis. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 11, p. 1686–1691, 2013.

MAHZOUNIEH, M.; KHOSHNOOD, S.; EBRAHIMI, A.; HABIBIAN, S.; YAGHOUBIAN, M. Detection of antiseptic-resistance genes in *Pseudomonas* and *Acinetobacter spp.* isolated from burn patients. **Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products**. v. 3 n. 9, p. 15402. 2014.

MCDONNELL G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 1, p. 147-179, 1999. Erratum in: **Journal of Clinical Microbiology** v.14, n.1, p.227, 2001.

MELO, L. C.; LINCOPAN, N.; HAENNI, M.; MADEC, J.-Y.; LEIGUE, L.; MELVILLE, P. A.; SARAS, E.; NETTO, H. M.; ORESCO, C.; BENITES, N. R. Prevalence and molecular features of ESBL/PampC-producing Enterobacteriaceae in healthy and diseased companion animals in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 221, n., p. 59–66, 2018.

MERIANOS JJ. Quaternary ammonium compounds. In: **Block SS. Disinfection, sterilization, and preservation**. 4thed. Philadelphia: Lea & Febiger; p. 225-255. 1991.

MOURA, Q.; FERNANDES, M. R.; SILVA, K. C.; MONTE, D. F.; ESPOSITO, F.; DROPA, M.; NORONHA, C.; MORENO, A. M.; LANDGRAF, M.; NEGRÃO, F. J.; LINCOPAN, N. Virulent nontyphoidal *Salmonella* producing CTX-M and CMY-2 β -lactamases from livestock, food and human infection, Brazil. **Virulence**. v. 1, n. 9, p. 281–286, 2018.

MOURA, Q.; ESPOSITO, F.; FERNANDES, M. R.; ESPINOZA-MUÑOZ, M.; SOUZA, T. A.; SANTOS, S. R.; CERDEIRA, L.; CASSETTARI, V.; LINCOPAN, N. Genome sequence analysis of a hypermucoviscous/hypervirulent and MDR CTX-M-15/K19/ST29 isolated from human infection. **Pathogens and disease**, v. 75, n. 9, p. 1–5, 2017.

NOECKER, R.; MILLER, K. V. Benzalkonium chloride in glaucoma medications. **Ocular Surface**. v. 9. n. 3, p.159-162, 2011.

OBLĄK, E.; PIECUCH, A.; REWAK-SOROCZYŃSKA, J.; PALUCH, E. Activity of gemini quaternary ammonium salts against microorganisms. **Applied Microbiology Biotechnology**. v. 103, n. 2, p. 625-632, 2018.

OMS- Organização Mundial de Saúde. 2017. Disponível em <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.

OPAZO-CAPURRO, A.; SAN MARTÍN, I.; QUEZADA-AGUILUZ, M.; MORALES, F.; DOMÍNGUEZ-YÉVENES, M.; LIMA, C.; ESPOSITO, F.; TEIXEIRA CERDEIRA, L.; BELLO-TOLEDO, H.; LINCOPAN, N.; GONZÁLEZ-ROCHA, G. E. Evolutionary dynamics of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* circulating in Chilean hospitals, 2018 (no prelo).

PARLATO, T. C. C.; VITAL, L. M. Aplicação do cloreto de benzalcônio em centros cirurgicos. **Revista Brasileira de Enfermagem**, 1972.

POLOTTO, M.; CASELLA, T.; DE LUCCA OLIVEIRA, M. G.; RÚBIO, F. G.; NOGUEIRA, M. L.; DE ALMEIDA, M. T. G.; NOGUEIRA, M. C. L. Detection of *P. aeruginosa* harboring

*bla*CTX-M-2, *bla*GES-1 and *bla*GES-5, *bla*IMP-1 and *bla*SPM-1 causing infections in Brazilian tertiary-care hospital. **BMC Infectious Diseases**, v. 12, 2012.

POOLE, K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 56, n. 1, p. 20-51, 2005.

RUSSELL, A. D. Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, n. s1, p. 121S–135S, 2003.

SANTA BÁRBARA, M. C.; LURICO, L.; MOYOCO, H.; APARECIDA, A.; RENATA.; B.; TIRICO, M. A. B. Qualidade de Saneantes e Antissépticos Utilizados Em Hospitais Da Rede Pública. **Rev Inst Adolfo Lutz**. v. 71, n. 4, p. 650–655, 2012.

SANTOS, E. M.; ARAÚJO, R. R. Testes de comparação de protocolos de extração de DNA e de maceração de tecido de *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 15, n. 4, p. 199–202, 2017.

SARTORI, L.; FERNANDES, M. R.; IENNE, S.; DE SOUZA, T. A.; GREGORY, L.; CERDEIRA, L.; LINCOPAN, N. Draft genome sequences of two fluoroquinolone-resistant CTX-M-15-producing *Escherichia coli* ST90 (ST23 complex) isolated from a calf and a dairy cow in South America. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 11, n p. 145–147, 2017.

SELLERA, F. P.; FERNANDES, M. R.; MOURA, Q.; CARVALHO, M. P. N.; LINCOPAN, N. Extended-spectrum- β -lactamase (CTX-M)-producing *Escherichia coli* in wild fishes from a polluted area in the atlantic coast of South America. **Marine Pollution Bulletin**, v. 135, n. , p. 183–186, 2018.

SELLERA, F. P.; FERNANDES, M. R.; MOURA, Q.; SOUZA, T. A.; CERDEIRA, L.; LINCOPAN, N. Draft genome sequence of *Enterobacter Cloacae* ST520 harbouring *bla*_{KPC-2}, *bla*CTX-M-15 and *bla*_{OXA-17}, isolated from coastal waters of the South Atlantic ocean. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 10, n p. 279–280, 2017.

SILVA, M. M.; FERNANDES, M. R.; SELLERA, F. P.; CERDEIRA, L.; MEDEIROS, L. K. G.; GARINO, F.; AZEVEDO, S. S.; LINCOPAN, N. Multidrug-resistant CTX-M-15-producing *Klebsiella Pneumoniae* ST231 associated with infection and persistent colonization of dog. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 92, n. 3, p. 259–261, 2018.

SHTYRLIN, N. V.; SAPOZHNIKOV, S. V.; GALIULLINA, A. S.; KAYUMOV, A. R.; BONDAR, O. V.; MIRCHINK, E. P.; ISAKOVA, E. B.; FIRSOV, A. A.; BALAKIN, K. V.; SHTYRLIN, Y. G. Synthesis and antibacterial activity of quaternary ammonium 4-deoxypyridoxine derivatives. **BioMed Research International**, 2016.

TIMENETSKY, J. Avaliação microbiológica de desinfetantes químicos de uso doméstico. **Revista de Saúde Pública**, v. 24, n. 1, p. 47–50, 2005.

TURANO, H.; GOMES, F.; MEDEIROS, M.; OLIVEIRA, S.; FONTES, L. C.; SATO, M. I. Z.; LINCOPAN, N. Presence of high-risk clones of OXA-23-Producing *Acinetobacter baumannii* (ST79) and SPM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* (ST277) in environmental water samples in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 86, n. 1, p. 80–82, 2016.

VIJAYAKUMAR, R.; SANDLE, T.; AL-ABOODY, M. S.; ALFONSAISAN, M. K.; ALTURAIKI, W.; MICKYMARAY, S.; PREMANATHAN, M.; ALSAGABY, S. A. Distribution of biocide resistant genes and biocides susceptibility in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* — a first report from the Kingdom of Saudi Arabia. **Journal of Infection and Public Health**, v. 11, n. 6, p. 812–816, 2018.

WU, G.; YANG, Q.; LONG, M.; GUO, L.; LI, B.; MENG, Y.; ZHANG, A.; WANG, H.; LIU, S.; ZOU, L. Evaluation of agar dilution and broth microdilution methods to determine the disinfectant susceptibility. **Journal of Antibiotics (Tokyo)**, v. 68, n.11, p.661-665, 2015.

ZHANG, Y.; CHEN, Y.; HU, Y.; HUANG, F.; XIAO, Y. Quaternary ammonium compounds in dental restorative materials. **Dental Materials Journal**, v. 30, n. 2, p. 183-191. 2018.

ZOU, L.; MENG, J.; MCDERMOTT, P. F.; WANG, F.; YANG, Q.; CAO, G.; HOFFMANN, M.; ZHAO, S. Presence of disinfectant resistance genes in *Escherichia coli* isolated from retail meats in the USA. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 10, p. 2644-2649. 2014.

Maria Elena Espinoza Munoz

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/5972491669502517>

Última atualização do currículo em 17/03/2019

Bacharel em Ciências Bioquímicas e Farmacêuticas- Universidad Mayor de San Simon (2012). Tem experiência na área de Bioquímica Clínica e Microbiologia Clínica, com ênfase em bacteriologia médica. estagiária no Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas ICB II - USP (2015-2016). Atualmente aluna de mestrado da FCF/USP. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Maria Elena Espinoza Munoz
Nome em citações bibliográficas	MUNOZ, M; MUÑOZ, MARIA; ESPINOZA MUÑOZ MARIA; ESPINOZA-MUÑOZ, MARIA; MUÑOZ, MARIA E; MUÑOZ, MARIA E.

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo. Avenida Professor Lineu Prestes, 1374 Butantã 05362050 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30917296
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

2017	Mestrado em andamento em Ciências Farmacêuticas (Conceito CAPES 7). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Resistência aos compostos de amônio quaternários (QACs) de uso doméstico e hospitalar em patógenos prioritários multirresistentes, Orientador: Nilton Erbet Lincopan Huenuman. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
2007 - 2012	Graduação em CIENCIAS BIOQUIMICAS FARMACEUTICAS. Universidad Mayor de San Simon, UMSS, Bolívia. Orientador: JHENNY PINTO DAVALOS.

Formação Complementar

2019 - 2019	Treinamento Teórico Prático de Bioanalyzer e TapeStation. (Carga horária: 16h). Agilent Genomics, AG, Brasil.
2013 - 2013	Curso Nacional de Actualización en Antimicrobianos en Bacteriología Clínica. (Carga horária: 60h). Universidad Mayor de San Andrés, UMSA, Bolívia.
2013 - 2013	Fundamentos Farmacológicos para la Terapéutica. (Carga horária: 70h). Servicio Departamental de Salud Cochabamba, SDSC, Bolívia.
2013 - 2013	Farmacología Y Terapéutica con Antimicrobianos. (Carga horária: 70h). Servicio Departamental de Salud Cochabamba, SDSC, Bolívia.
2013 - 2013	Farmacología e Terapéutica Gastroenterológica y Endócrina. (Carga horária: 70h). Servicio Departamental de Salud Cochabamba, SDSC, Bolívia.
2013 - 2013	Farmacología e Farmacoterapia de la Inflamación y el Dolor. (Carga horária: 70h). Servicio Departamental de Salud Cochabamba, SDSC, Bolívia.
2013 - 2013	Farmacología Y Terapéutica Cardiovascular. (Carga horária: 70h). Servicio Departamental de Salud Cochabamba, SDSC, Bolívia.

Atuação Profissional

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Vínculo institucional

2018 - 2018

Vínculo: estagiária, Enquadramento Funcional: Programa de Aperfeiçoamento em Ensino, Carga horária: 120

Vínculo institucional

2015 - 2016

Vínculo: Estagiaria, Enquadramento Funcional: Instituto de Ciencias Biomedicas ICBII-USP, Carga horária: 20

Hospital Materno Infantil, HMI, Bolívia.

Vínculo institucional

2013 - 2013

Vínculo: Servidor Público, Enquadramento Funcional: Bioquímica Farmaceutica, Carga horária: 40

Laboratorio Clinico Arce, LCA, Bolívia.

Vínculo institucional

2013 - 2014

Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: Bioquímica Farmaceutica, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva.

Raia Drogasil S.A, RAIADROGASIL, Brasil.

Vínculo institucional

2014 - 2017

Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: Atendente II, Carga horária: 40

Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Microbiologia / Subárea: Microbiologia Aplicada.
2. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Microbiologia / Subárea: Microbiologia Aplicada/Especialidade: Microbiologia Médica.
3. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia / Subárea: bioquímica farmaceutica.

Idiomas

Espanhol

Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

Inglês

Compreende Razoavelmente, Fala Pouco, Lê Bem, Escreve Pouco.

Português

Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Razoavelmente.

Produções

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

Ordem Cronológica ▼

1. ★ RUMI, MARÍA VALERIA ; MAS, JAVIER ; ELENA, ALAN ; CERDEIRA, LOUISE ; **MUÑOZ, MARIA E.** ; LINCOPAN, NILTON ; GENTILINI, ÉLIDA R. ; DI CONZA, JOSÉ ; GUTKIND, GABRIEL . Co-occurrence of clinically relevant β -lactamases and MCR-1 encoding genes in Escherichia coli from companion animals in Argentina. VETERINARY MICROBIOLOGY **JCR**, v. 230, p. 228-234, 2019.
2. FERNANDES, MIRIAM R ; CERDEIRA, LOUISE ; SILVA, MEIRE M ; SELLERA, FÁBIO P ; **MUÑOZ, MARIA** ; JUNIOR, FELICIO G ; AZEVEDO, SERGIO S ; POWER, PABLO ; GUTKIND, GABRIEL ; LINCOPAN, NILTON . Novel mcr-5.3 variant in a CTX-M-8-producing Escherichia coli ST711 isolated from an infected horse. JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY **JCR**, v. 73, p. 3520-3522, 2018.
3. ★ SACRAMENTO, ANDREY G. ; FERNANDES, MIRIAM R. ; SELLERA, FÁBIO P. ; **MUÑOZ, MARIA E.** ; VIVAS, ROBERTO ; DOLABELLA, SILVIO S. ; LINCOPAN, NILTON . Genomic analysis of MCR-1 and CTX-M-8 co-producing Escherichia coli ST58 isolated from a polluted mangrove ecosystem in Brazil. Journal of Global Antimicrobial Resistance **JCR**, v. 15, p. 288-289, 2018.
4. ESPOSITO, FERNANDA ; FERNANDES, MIRIAM R. ; LOPES, RALF ; **MUÑOZ, MARIA** ; SABINO, CAETANO P. ; CUNHA, MARCOS P. ; SILVA, KETRIN C. ; CAYÔ, RODRIGO ; MARTINS, WILLAMES M. B. S. ; MORENO, ANDREA M. ; KNÖBL,

TEREZINHA ; GALES, ANA C. ; LINCOPAN, NILTON . Detection of Colistin-Resistant MCR-1-Positive Escherichia coli by Use of Assays Based on Inhibition by EDTA and Zeta Potential. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY **JCR**, v. 55, p. 3454-3465, 2017.

5. ★ MOURA, QUÉZIA ; ESPOSITO, FERNANDA ; FERNANDES, MIRIAM R ; **ESPINOZA-MUÑOZ, MARIA** ; SOUZA, TIAGO A ; SANTOS, SILVIA R ; CERDEIRA, LOUISE ; CASSETTARI, VALÉRIA ; LINCOPAN, NILTON . Genome sequence analysis of a hypermucoviscous/hypervirulent and MDR CTX-M-15/K19/ST29 Klebsiella pneumoniae isolated from human infection. Pathogens and Disease **JCR**, v. 75, p. 75-79, 2017.

Resumos publicados em anais de congressos

1. **MUÑOZ, MARIA E**; MOURA, Q. ; FERNANDES, MIRIAM R ; BUERIS, V. ; MELO, L. ; SELLERA, FÁBIO P ; LOPES, RALF ; CERDEIRA, LOUISE ; SARTORI, L. ; MONTE, D. F. ; LANDGRAF, M. ; LINCOPAN, NILTON . Resistencia a compuestos de amonios cuaternarios (QAC) em bacterias de importancia medica en la interface humana - ambiente - animal: um desafio para los laboratorios de microbiologia clinica. In: XXIV Congreso Latino Americano de Microbiologia 2018, 2018, Santiago. XXIV Congreso Latino Americano de Microbiologia 2018, 2018.
2. FERNANDES, MIRIAM R ; SELLERA, FÁBIO P ; MOURA, Q. ; **MUÑOZ, MARIA** ; MONTE, D. F. ; SACRAMENTO, ANDREY G. ; SILVA, MEIRE M ; CERDEIRA, LOUISE ; SANTOS FILHO, L. ; LEVY, C. ; LINCOPAN, NILTON . genomic epidemiology of colistin - resistant Escherichia coli carrying mcr - 1 and mcr - 5.2 genes in the animal - human - environment interface, Brazil. In: 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2018, Madrid. 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2018.
3. **MUÑOZ, MARIA E**; ESPOSITO, FERNANDA ; FERNANDES, MIRIAM R ; LOPES, RALF ; SABINO, CAETANO P. ; CUNHA, MARCOS P. ; CAYO, R. ; MARTINS, WILLAMES M. ; GALES, ANA C. ; LINCOPAN, NILTON . Simple and inexpensive methods for routine detection of colistin - resistant MCR - 1 - Positive Escherichia coli in human and veterinary diagnostic laboratories. In: 29º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2017, Foz do Iguaçu. 29º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2017.
4. NASCIMENTO, A. ; MARTINS, W. ; FEHLBERG, L. ; **MUNOZ, M** ; LINCOPAN, N. ; VASCONCELOS, A. ; GALES, A. . Detection of an Unusual Plasmid in Spm-1 Producing Pseudomonas aeruginosa. In: Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2016, Boston. - Detection of an Unusual Plasmid in Spm-1 Producing Pseudomonas aeruginosa, 2016.

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. Workshop Internacional - Conceitos Contemporâneos em Resistência Bacteriana. 2018. (Outra).
2. Microbiologia de A a Z: da biologia molecular à prática clínica. 2017. (Outra).
3. Aplicando Saúde - Conceitos e Técnicas de Aplicação de Injetáveis. 2016. (Oficina).
4. Treinamento em Biossegurança. 2015. (Outra).
5. Congreso Nacional Científico de Estudiantes de de Ciencias farmaceuticas y Bioquímicas. 2011. (Congresso).

Organização de eventos, congressos, exposições e feiras

1. **MUÑOZ, MARIA**. Workshop internacional - Conceitos Contemporâneos em Resistência Bacteriana. 2018. (Congresso).

Login

Aluno(a)
Maria Elena Espinoza Munoz
NUSP : 9234477
Sair

NUSP: 9234477 Nome: Maria Elena Espinoza Munoz

Ficha do Aluno

Curso	Área	Nº Sequencial	Situação	Visualizar
→ Mestrado Análises Clínicas (9136)		1	Matrícula de Acompanhamento	

[Preparar para imprimir](#)

Apresentação

- Apresentação
- Vídeos tutoriais

+ Acesso público

+ Senha

+ Pessoa

+ Informações pessoais

- Aluno regular

- Ficha do aluno
- Bolsas
- Emissão de documentos
- Validação de dados

+ PAE

+ Matrícula

+ Cartões USP

- Avisos
- Mapa do site
- E-mails automáticos
- Quem São

- Portal Alumni

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9136 - 9234477/1 - Maria Elena Espinoza Munoz

Email: mariaelena@usp.br
Data de Nascimento: 12/06/1988
Cédula de Identidade: RNE - G000758-Z - DF
Local de Nascimento: Bolívia
Nacionalidade: Boliviana
Graduação: Bioquímica Farmacêutica - Universidad Mayor de San Simón - Bolívia - 2013

Curso: Mestrado
Programa: Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)
Área: Análises Clínicas
Data de Matrícula: 26/01/2017
Início da Contagem de Prazo: 26/01/2017
Data Limite para o Depósito: 26/07/2019
Orientador: Prof(a). Dr(a). Nilton Erbet Lincopan Huenuman - 26/01/2017 até o presente. Email: lincopan@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 26/01/2017
Português, Aprovado em 19/12/2017
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 16/03/2018
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 26/01/2017

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 14/01/2019

Impresso em: 05/04/2019 11:39:48

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9136 - 9234477/1 - Maria Elena Espinoza Munoz

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
MPT5795-2/1	Bases Éticas, Metodológicas e Gerenciais em Pesquisa (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	03/03/2017	15/06/2017	225	0	-	-	N	Matrícula cancelada
BMM5803-3/3	Fundamentos de Biologia Molecular Bacteriana (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	07/03/2017	18/04/2017	60	4	100	C	N	Concluída
MIP5723-5/1	Antibioticoterapia e Resistência Bacteriana: Análise Crítica de Métodos de Investigação e Intervenção (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	07/08/2017	03/09/2017	60	4	100	A	N	Concluída
FBC5757-8/1	Tópicos em Fisiopatologia e Toxicologia II	15/08/2017	27/11/2017	15	1	100	A	N	Concluída
ICB5709-6/5	Ensaios Pedagógicos (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	04/10/2017	07/11/2017	45	3	100	A	N	Concluída
MPT5741-4/2	Patologia das Grandes Endemias Brasileiras (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	16/10/2017	12/11/2017	120	8	100	A	N	Concluída
BMM5829-3/1	Estudo do Envolvimento Celular de Bactérias Gram-Positivas e Gram-Negativas (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	26/02/2018	08/04/2018	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBC5793-14/1	Tópicos em Fisiopatologia e Toxicologia I	05/03/2018	19/06/2018	15	1	75	A	N	Concluída
BMM5893-2/1	Métodos Clássicos e Moleculares de Estudo em Genética Bacteriana (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	09/04/2018	18/06/2018	60	4	100	B	N	Concluída
Atividade do Programa	Etapa de Preparação Pedagógica no 2º Sem./2018, modalidade Disciplina, Estágio Supervisionado em Docência, com carga horária 120 horas, do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino junto à Disciplina BMM0160 – Microbiologia Básica, do Dep. de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, ministrada aos alunos de graduação, sob a supervisão do Prof. Dr. Gabriel Padilla Maldonado. (1)	01/07/2018	30/11/2018	-	3	-	-	-	-
BMM5746-6/1	Controle Microbiológico. Esterilização e Desinfecção (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	14/08/2018	10/09/2018	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	28
Estágios:			
Total:	0	25	28

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Observações:

1) Créditos atribuídos de acordo com o disposto na Portaria GR-3588 e GR-4391 - PAE, de 31.08.09 e aprovados pela Comissão de Pós-Graduação, em Sessão de 13/03/2019.

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência. Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 14/01/2019

Impresso em: 05/04/2019 11:39:48

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9136 - 9234477/1 - Maria Elena Espinoza Munoz

Comissão julgadora da dissertação de mestrado:			
NUSP	Nome	Vínculo	Função
2552149	Nilton Erbet Lincopan Huenuman	ICB - USP	Presidente

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 14/01/2019

Impresso em: 05/04/2019 11:39:48

Fale Conosco: pgfarma@usp.br | 2006-2011 - Pós-Graduação/USP | [Regimento da Pós-Graduação](#)