

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

Natália Pereira de Oliveira Machado

Fatores de Virulência e Resistência Antimicrobiana
em *Pseudomonas* Spp. sob uma Perspectiva de Saúde
Única

2026



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

**FATORES DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM
PSEUDOMONAS SPP. SOB UMA PERSPECTIVA DE SAÚDE ÚNICA**

NATÁLIA PEREIRA DE OLIVEIRA MACHADO

Sob a Orientação da Professora
Irene da Silva Coelho

e Coorientação da Professora
Miliane Moreira Soares de Souza

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

Seropédica, RJ
Junho de 2026

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

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

M149f	Machado, Natália Pereira de Oliveira, 2000- Fatores de virulência e resistência antimicrobiana em <i>Pseudomonas</i> spp. sob uma perspectiva de saúde única / Natália Pereira de Oliveira Machado. - Seropédica, 2026. 78 f. : il. Orientadora: Irene da Silva Coelho. Dissertação (Mestrado). – – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo, 2026. 1. Antibiótico. 2. Agropecuária. 3. Colistina. 4. Solo. I. Coelho, Irene da Silva, 1979-, orient. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo. III. Título.
-------	--

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

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



**HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 36 / 2026 - CPGACS
(12.28.01.00.00.00.27)**

Nº do Protocolo: 23083.031786/2026-87

Seropédica-RJ, 08 de julho de 2026.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE AGRONOMIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO

NATALIA PEREIRA DE OLIVEIRA MACHADO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestra, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/06/2026.

Irene da Silva Coelho. Dra. UFRRJ
(Orientadora)

Sulamita Santos Correa. Dra. Embrapa

Shana de Mattos de Oliveira Coelho. Dra. UFRRJ

(Assinado digitalmente em 08/07/2026 18:41)
IRENE DA SILVA COELHO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.54)
Matrícula: 1815763

(Assinado digitalmente em 08/07/2026 16:17)
SHANA DE MATTOS DE OLIVEIRA COELHO
DIRETOR DE DEPARTAMENTO - TITULAR
DRII (12.28.01.49)
Matrícula: 1722406

(Assinado digitalmente em 10/07/2026 10:16)
SULAMITA SANTOS CORREA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 153.223.117-26

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp>
informando seu número: **36**, ano: **2026**, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, data de emissão: **08/07/2026** e o código de verificação: **78c438a762**

AGRADECIMENTOS

Eu começo agradecendo a minha espiritualidade e ao Deus que reside em todos nós, que sempre me deu a clareza, sabedoria e força para enfrentar os desafios e por sempre me abençoar na minha caminhada. “[...] eu vou viver a totalidade da promessa, o Deus de obras completas vai fazer cumprir na hora certa. Não vou temer, o projeto vem de quem não erra, o Deus de obras completas vai fazer cumprir na hora certa [...]”.

Agradeço aos meus pais Cleumira e Carlos Henrique, por terem sempre investido e acreditado no ensino de qualidade e por sempre me ampararem em todos os momentos. Também agradeço pela parceria do meu irmão Victor. A irmã saiu de casa muito cedo (17 anos), mas foi por algo nobre. Obrigada por ter me entendido. Sou muito grata a toda minha família, em especial minha avó Maria, meu avô Irany, minha tia Maria Elisa e minha tia avó Nira e meus avós Alvanir e Selma.

Ao meu excelentíssimo namorado Dr. Wesley dos Santos Souza, que esteve presente comigo em todos os momentos, sejam os difíceis ou os mais importantes e alegres. Eu nunca vou me esquecer de você e de tudo que você já fez por mim. Você é um ser de luz muito especial e eu só desejo que você sempre continue brilhando, porque sua estrela nunca irá se apagar. Eu te amo muito. Obrigada por tudo. Com certeza foram os três anos da minha vida contigo em que eu mais aprendi e evoluí. E sei que não foi fácil me aturar nesse Mestrado, que durou dois anos e alguns meses dentro dessa nossa jornada junto, mas obrigada por ter me aturado. Acho que agora não nos largamos mais (risos).

Sou grata pela vida da minha sogra e sogro e por toda família do meu namorado, que também se tornou minha família. Obrigada sempre pelas mensagens de carinho, mesmo cerca de milhares de Km de distância.

Agradeço a minha orientadora professora Dra. Irene da Silva Coelho pelo acolhimento, aprendizado e parceria. Sou muito feliz e grata por todo seu apoio, empatia e ensinamentos. Obrigada por ter me apoiado e por ter tido empatia quando me acidentei, nunca vou esquecer disso. À minha co-orientadora Dra. Miliane por todo suporte e apoio neste projeto.

Agradeço a professora Dra. Shana por ter aberto a porta do LABACGEM para eu poder começar a trilhar meus sonhos. A senhora também foi muito importante para meus aprendizados profissionais.

Ao professor Dr. Daniel por ter nos ajudado com toda sua expertise em ferramentas de bioinformática e contribuído imensamente para este trabalho acontecer.

Eu também agradeço a todos os integrantes do LABACGEM hoje presentes e os que já deixaram seu legado. Em especial aos meus orientados: Pedro Ruiz, Eric, Bruna, Nathalia, Allan, Camila, Thamires e Davi da Roza. Ao Gustavo Sant’ana (pai) por todo suporte e apoio com a bioinformática deste trabalho. Ao Gustavo Saldanha por todo o apoio experimental deste trabalho e dicas. Ao Érico e a Julia Xavier pela disponibilidade das bactérias e por todo apoio.

Aos amigos Emerson, Elderson (que morou comigo por um tempo, eu amei compartilhar a vida contigo por quase um ano), Stallone, Guilherme, Victória e Fernando por todo apoio, carinho e conselhos. À Vanessa Serra e Clenya por ter me incentivado na época a entrar para o Mestrado, fica aqui meu carinho e gratidão.

À minha amiga Lis, que foi além de uma colega de laboratório, obrigada por todo seu apoio, momentos de desabafo, dos abraços e choros. Você é muito especial, saiba sempre disso. Torço muito por ti.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo ensino público, gratuito e de qualidade, em especial ao Programa de Pós-graduação de Agronomia – Ciência do Solo, pela excelência de ensino e por ter formado a profissional que sou hoje.

À CAPES, CNPq e FAPERJ por concederem às bolsas de fomento e financiarem os projetos dentro do Laboratório de Bacteriologia e Genética Molecular.

*“O importante é não parar de questionar;
a curiosidade tem sua própria razão de existir”*

Albert Einstein

DECLARAÇÃO DE USO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Declaro que ferramentas de Inteligência Artificial Generativa foram utilizadas neste trabalho nas seguintes condições:

ChatGPT foi utilizada para corrigir a gramática do texto, na etapa de revisão de literatura, introduções e discussões.

Todo o conteúdo gerado com o apoio dessas ferramentas foi submetido à revisão crítica pela autora, que assume integral responsabilidade pela originalidade, veracidade e integridade do texto final, em conformidade com a Política de Integridade na Atividade Científica do CNPq (Portaria nº 2.664/2026).

RESUMO GERAL

MACHADO, Natália Pereira de Oliveira. **Fatores de virulência e resistência antimicrobiana em *Pseudomonas* spp. sob uma perspectiva de saúde única.** 2026. 78f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2026.

O gênero *Pseudomonas* spp. abrange bactérias Gram-negativas, ubíquas, reconhecidas por sua alta plasticidade genética e por acumular genes inerentes e/ou adquiridos associados à virulência e à resistência antimicrobiana (RAM), os quais são essenciais para sua colonização e persistência em diferentes ambientes, como o solo, água, animais e seres humanos. A circulação dessas bactérias entre diferentes nichos ecológicos favorece a disseminação da resistência por transferência horizontal de genes (THG) que, por consequência, torna esse gênero um excelente modelo de estudos de adaptação microbiana e RAM em diferentes nichos ambientais e humanos. Dessa forma, para o Capítulo I, foram selecionadas 53 cepas de *Pseudomonas* spp., dentre as quais 38 foram isoladas de solos agrícolas e 2 de mata nativa em São José do Vale do Rio Preto, Rio de Janeiro, 13 foram oriundas de solos salinos de Guaratiba, região dos Lagos/RJ. Dentre as cepas analisadas, 89% dessas bactérias apresentaram pelo menos um fator de virulência, com predominância das atividades lipolítica (47%), proteolítica (45%) e hemolítica (32%). Em relação a resistência a antimicrobianos, 53% apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano, com destaque para aztreonam (36%), ciprofloxacino (23%) e meropenem (19%), sendo observada multirresistência em cepas de solos agrícolas. A resistência à colistina foi confirmada em 19% das cepas. Foi verificado que as dez cepas positivas para resistência a colistina nos testes COL-AS e COL-DT mostraram concordância categórica de 100% (10/10) com o teste de microdiluição em caldo. Três cepas (SI276, SI277, SI283) apresentaram concentração inibitória mínima (CIM) maior que 512 mg/L, ultrapassando o limite de detecção do método e superando em mais de 100 vezes o ponto de corte clínico ($>4\text{mg/L}$). No Capítulo II, foi realizada uma análise *in silico* com 1955 genomas de *Pseudomonas* spp. provenientes de origens humana, animal, solo e água. Os genomas de origem humana e animal apresentaram maior abundância e diversidade de genes de resistência antimicrobiana e fatores de virulência quando comparados aos de origem ambiental. Foram identificados 249 genes de virulência distintos, sendo *fliG* e *flgG* os mais prevalentes (99,4%), enquanto os genes de resistência adquirida mais frequentes foram *vanW* (67%), *blaOXA* (64%) e *aph(3')* (63,5%). Foi observada correlação positiva significativa entre o número de genes de resistência e fatores de virulência ($\rho = 0,67$; $p = 3,45 \times 10^{-254}$). Em conjunto, os resultados demonstram que *Pseudomonas* spp. presentes em diferentes ambientes constituem importantes reservatórios de genes de resistência antimicrobiana e fatores de virulência. Dessa forma, de acordo com os dados fenotípicos e da análise *in silico*, os ambientes naturais e antropizados podem atuar como fontes de manutenção e disseminação desses mecanismos de defesa bacteriano. Portanto, faz-se necessário uma vigilância contínua e abordagens integradas baseadas no conceito One Health para o monitoramento e controle da circulação de microrganismos patogênicos e da resistência antimicrobiana.

Palavras-chave: Antibiótico. Agropecuária. Colistina. Solo.

GENERAL ABSTRACT

MACHADO, Natália Pereira de Oliveira. **Virulence factors and antimicrobial resistance in *Pseudomonas* spp. a One Health perspective.** 2026. 78p. Dissertation (Master in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2026.

Bacteria of the genus *Pseudomonas* comprises ubiquitous Gram-negative recognized for their high genetic plasticity and ability to accumulate both intrinsic and acquired genes associated with virulence and antimicrobial resistance (AMR). These characteristics play a crucial role in bacterial colonization and persistence across diverse environments, including soil, water, animals, and humans. The existence of *Pseudomonas* among different ecological niches facilitates the dissemination of such genes through horizontal gene transfer (HGT), making *Pseudomonas* an excellent model for investigating microbial adaptation and AMR dynamics across environmental and human-associated settings. In Chapter I, 53 *Pseudomonas* spp. isolates were analyzed, including 38 strains recovered from agricultural soils and 2 native forest soils in São José do Vale do Rio Preto, Rio de Janeiro, Brazil, as well as 13 isolates obtained from saline soils collected in Guaratiba and the Região dos Lagos, Rio de Janeiro State. Among these isolates, 53% exhibited resistance to at least one antimicrobial agent, with the highest resistance rates observed for aztreonam (36%), ciprofloxacin (23%), and meropenem (19%). Multidrug resistance was detected among isolates from agricultural soils. Colistin resistance was confirmed in 19% of the isolates. The ten strains classified as resistant by both alternative methods (COL-AS and COL-DT) showed 100% categorical agreement (10/10) with the broth microdilution method (BMD), considered the gold standard. Furthermore, three isolates (SI276, SI277, and SI283) exhibited minimum inhibitory concentration (MIC) values exceeding the upper limit of the assay (>512 mg/L), which is remarkably high compared with the clinical resistance breakpoint (>4 mg/L). In addition, 89% of the isolates expressed at least one virulence-associated phenotype, with lipolytic (47%), proteolytic (45%), and hemolytic (32%) activities being the most prevalent. In Chapter II, an *in silico* analysis was conducted using 1,955 *Pseudomonas* genomes obtained from human, animal, soil, and water sources. Genomes of human and animal origin displayed greater abundance and diversity of antimicrobial resistance genes and virulence factors than those derived from environmental sources. A total of 249 distinct virulence genes were identified, with *fliG* and *flgG* being the most prevalent (99.4%). The most frequent acquired resistance genes were *vanW* (67%), *blaOXA* (64%) and *aph(3')* (63.5%). Moreover, a significant positive correlation was observed between the number of resistance genes and virulence factors ($p = 0.67$; $p = 3.45 \times 10^{-254}$). Collectively, these findings demonstrate that *Pseudomonas* spp. inhabiting different environments constitute important reservoirs of antimicrobial resistance genes and virulence determinants and are capable of expressing phenotypes consistent with these genetic traits. Based on both phenotypic and *in silico* analyses, natural and anthropogenically impacted environments may act as sources for the maintenance and dissemination of bacterial defense mechanisms. Therefore, continuous surveillance and integrated approaches based on the One Health framework are essential for monitoring and controlling the circulation of pathogenic microorganisms and antimicrobial resistance.

Keywords: Antibiotics. Agriculture. Colistin. Soil.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localizações georreferenciadas dos pontos de coleta de solo em propriedades agrícolas (SA1 e SA2) e na área florestal (FS) no município de São José do Vale do Rio Preto, RJ, Brasil (Acervo da autora, 2024). Fonte: IBGE; Google Earth, 2022..... 9
- Figura 2.** Diagrama representando as áreas de coleta com um mapa da região, localização, paisagem e espécies de plantas presentes. (a) Planície Hipersalina de Guaratiba/RJ - Planta (a1) *Salicornia fruticosa*; (b) Entorno da lagoa hipersalina em Saquarema/RJ - Planta (b1) *Sporobolus virginicus* e planta (b2) *Cyperus ligularis*; (c) Área de salina desativada em São Pedro da Aldeia/RJ - Planta (c1) *S. fruticosa* e (c2) *Blutaparon portulacoides*. Fonte: Elaborado pela Autora. 10
- Figura 3.** Teste da gota com colistina. A - suspensão de colistina foi inoculado no centro da placa com o meio Mueller-Hinton. A. As cepas que não apresentaram crescimento dentro da área da gota de colistina foram consideradas como sensíveis (seta verde). B - Os que cresceram na zona da gota foram considerados resistentes (seta marrom). Fonte: Acervo de imagens da Autora. 13
- Figura 4.** Teste do *Agar Spot* com colistina. *Onde houve crescimento de colônia foi considerado positivo para resistência à colistina (R/setas laranjas). Já as cepas que não cresceram foram consideradas como sensíveis (S/seta verde). Fonte: Acervo de imagens da Autora. 14
- Figura 5.** Avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) de colistina por meio do teste de microdiluição em caldo na microplaca de 96 poços. As colunas de 1 ao 11 contêm concentrações decrescentes de colistina (512, 256, 128, 64, 32, 16, 8,4, 2, 1, 0,5 até 0,25 µg/mL). As linhas A: CE – Controle estéril; Linha B: CP – Controle positivo; Linha C: CN – Controle negativo. Já as linhas D a H utilizadas para avaliar a CIM de colistina de 5 cepas de *Pseudomonas* spp. A cor avermelhada indica crescimento bacteriano, enquanto a ausência de cor indica inibição completa do crescimento. Fonte: Elaborado pela Autora. 14
- Figura 6.** Porcentagem dos fatores de virulência em 53 cepas de *Pseudomonas* spp. isoladas de solos agrícolas e florestais de São José do Vale do Rio Preto e solos salinos na Região dos Lagos – RJ. Fonte: Elaborado pela Autora. 16
- Figura 7.** Frequência percentual de fatores de virulência em 53 cepas de *Pseudomonas* spp. isoladas de solos agrícolas e florestais de São José do Vale do Rio Preto e solos salinos na Região dos Lagos – RJ. Fonte: Elaborado pela Autora. 17
- Figura 8.** Porcentagem dos fatores de virulência detectados nas 53 cepas de *Pseudomonas* spp. originadas do SA1: Solo Agrícola 1 de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n= 15), SA2: Solo Agrícola 2 de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n= 23), SF: Solo florestal de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n=2), SS: Solo Salino da Região dos Lagos – RJ (n= 13). Fonte: Elaborado pela Autora. 17
- Figura 9.** Perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 53 cepas de *Pseudomonas* spp. isoladas de solos agrícolas e florestais de São José do Vale do Rio Preto e solos salinos na Região dos Lagos – RJ. ATM- Aztreonam betalactâmico - monobactâmico); MPM – Meropenem (betalactâmico - carbapenêmico); CAZ – Ceftazidima (betalactâmico - cefalosporina de terceira geração); CPM – Cefepime (betalactâmico – cefalosporina de quarta geração); CIP – Ciprofloxacina (fluroquinolona); AMI – Amicacina (aminoglicosídeo). Fonte: Elaborado pela Autora. 18
- Figura 10.** Porcentagem de cepas de *Pseudomonas* spp. resistentes a pelo menos um antimicrobiano considerando as três origens de isolamento: Solos agrícolas (n=38) – soma

das cepas do SA1: Solo Agrícola 1 de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n= 15) e SA2: Solo Agrícola 2 de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n= 23), Solos de mata - SF: Solo florestal de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n=2), SS: Solo Salino da Região dos Lagos – RJ (n= 13). Fonte: Elaborado pela Autora. 20

Figura 11. (A) Distribuição percentual das cepas de *Pseudomonas* spp. dos solos agrícolas SA1 e SA2 de acordo com o número de antimicrobianos aos quais apresentaram resistência. (B) Porcentagem das cepas de *Pseudomonas* spp. resistentes a cada antimicrobiano no solo agrícola 1 (SA1) e solo agrícola 2 (SA2). Fonte: Elaborado pela Autora. 21

Figura 12. Porcentagem de bactérias sensíveis, heterorresistentes e resistentes à colistina detectadas em metodologias distintas (*Drop Test* e *Agar Spot Test*). Fonte: Elaborado pela Autora. 21

Figura 13. Abundância relativa das espécies de 1955 genomas de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens (homem, animal, solo e água). Fonte: Elaborado pela Autora. 37

Figura 14. Histograma do número de genes de virulência por genomas encontrados de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens (A: humano, B: animal, C: solo e D: água). Fonte: Elaborado pela Autora. 38

Figura 15. Diagrama de Venn do número de genes de virulência por genomas encontrados de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens. Fonte: Elaborado pela Autora. 39

Figura 16. Frequência de genes de virulência detectados nos genomas de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens (humano, animal, solo e água). Fonte: Elaborado pela Autora. 40

Figura 17. Histograma do número de genes de resistência aos antimicrobianos por genomas de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens (A: humano, B: animal, C: solo e D: água). Fonte: Elaborado pela Autora. 41

Figura 18. Correlação entre o número de genes de virulência e genes de resistência a antimicrobianos em genomas de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens. O eixo X representa o número de fatores de virulência presentes por genoma, e o eixo Y representa o número de genes de resistência a antimicrobianos por genoma. Cada ponto corresponde a um genoma e as cores indicam a origem ambiental dos genomas (animal, humano, solo e água). Fonte: Elaborado pela Autora. 44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição das espécies de <i>Pseudomonas</i> spp. isoladas de solo agrícola 1 (SA1), solo agrícola 2 (SA2), solo de floresta (SF) e solo salino (SS).	11
Tabela 2. Antibiotipagem de espécies de <i>Pseudomonas</i> spp. oriundas de solos agrícolas, de mata e salinos.....	18
Tabela 3. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de cepas de <i>Pseudomonas</i> spp. que deram positivo nos testes <i>Agar Spot Test</i> e <i>Drop Test</i> para colistina.....	22
Tabela 4. Frequência dos genes de resistência adquirida mais abundantes em <i>Pseudomonas</i> spp. de diferentes origens (humana, animal, solo e água).	42
Tabela 5. Genes de resistência aos antimicrobianos exclusivos dos genomas de <i>Pseudomonas</i> spp. em cada ambiente (humano, animal, solo e água).	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. CAPÍTULO I FATORES DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM CEPAS DE <i>Pseudomonas</i> spp. DE SOLOS DE DIFERENTES ORIGENS	3
2.1 RESUMO	4
2.2 ABSTRACT.....	5
2.3 INTRODUÇÃO	6
2.4 MATERIAL E MÉTODOS	9
2.4.1 Identificação das áreas e informações de coleta	9
2.4.2 Origem e identificação das cepas de <i>Pseudomonas</i> spp.	11
2.4.3 Detecção fenotípica de fatores de virulência	11
2.4.4 Detecção fenotípica de resistência antimicrobiana	12
2.5 RESULTADOS	16
2.5.1. Detecção fenotípica dos fatores de virulência.....	16
2.5.2 Perfil de resistência antimicrobiana em <i>Pseudomonas</i> spp.....	17
2.5.3 Resistência à colistina detectada por diferentes métodos	21
2.5.4 Co-ocorrência de fatores de virulência e resistência antimicrobiana.....	22
2.6 DISCUSSÃO	23
2.7 CONCLUSÃO	29
3. CAPÍTULO II ANÁLISE IN SILICO DA VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM <i>Pseudomonas</i> spp. SOB A PERSPECTIVA DE SAÚDE ÚNICA	30
3.1 RESUMO	31
3.2 ABSTRACT.....	32
3.3 INTRODUÇÃO	33
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	35
3.4.1. Obtenção e seleção de genomas de <i>Pseudomonas</i> spp.	35
3.4.2. Identificação dos genes de resistência a antimicrobianos	35
3.4.3. Identificação dos genes de virulência	35
3.4.4. Análises estatísticas.....	35
3.5 RESULTADOS	37
3.5.1 Identificação e distribuição dos genomas de <i>Pseudomonas</i> spp.....	37
3.5.2 Detecção dos genes de virulência	37
3.5.3 Detecção dos genes de resistência antimicrobiana	41
3.5.4 Correlação entre de genes de virulência e de resistência antimicrobiana	44
3.6 DISCUSSÃO	45
3.7 CONCLUSÃO	52
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
6. APÊNDICES	73

1. INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Pseudomonas* spp. são bactérias ubíquas, presentes em ambientes naturais (solo e água), clínicos e até em ambientes extremos como a Antártica (SILVERIO et al., 2025). Essas bactérias se destacam pela plasticidade genética, versatilidade metabólica e capacidade de colonizar diversos nichos ecológicos. Embora muitas espécies desempenhem funções ecológicas importantes, como a ciclagem de nutrientes, promoção do crescimento vegetal e controle biológico de fitopatógenos, algumas apresentam relevância clínica devido à capacidade de causar infecções oportunistas (LETIZIA; DIGGLE; WHITELEY, 2025).

O gênero abriga diversos fatores de virulência, os quais contribuem para a colonização, sobrevivência e interação com diferentes hospedeiros (TAN et al., 2025; AZAM; KHAN, 2019). Além disso, tanto espécies de *Pseudomonas* spp. patogênicas (*P. aeruginosa*) quanto ambientais (*P. chlororaphis*, *P. putida*, *P. fluorescens*), no geral, podem apresentar mecanismos intrínsecos (inerente à bactéria) e adquiridos (por transferência horizontal de genes) de resistência antimicrobiana. Diante disso, as *Pseudomonas* spp. podem atuar como reservatórios e disseminadores de genes de resistência (GRAs) de importância clínica (BAWA et al., 2025; PITCHIAH; GANAPATHY; KAMALA, 2026).

Entre as espécies de *Pseudomonas* spp., *P. aeruginosa* é reconhecida como um importante patógeno oportunista associado às infecções hospitalares. A capacidade de adaptação a diferentes ambientes está relacionada à produção de diversos fatores de virulência, como biofilmes, piocianina, pioverdina, elastases, proteases, lipases, hemolisinas e adesinas, cuja expressão está associada a genes como *exoS*, *exoU*, *toxA*, *lasB* e *algD*, os quais favorecem a colonização, a persistência e o dano aos tecidos do hospedeiro (AZAM; KHAN, 2019; TAN et al., 2025).

Além disso, essas bactérias apresentam resistência intrínseca e/ou adquirida a múltiplas classes de antimicrobianos (HORCAJADA et al., 2019). A resistência aos carbapenêmicos está frequentemente relacionada à presença de genes como *blaKPC*, *blaNDM*, *blaVIM*, *blaIMP*, *blaSIM*, *blaGIM*, *blaSPM* e *blaOXA-48*, os quais contribuem para a sobrevivência e a persistência dessas cepas em ambientes hospitalares (BAWA et al., 2025; PITCHIAH; GANAPATHY; KAMALA, 2026).

A resistência antimicrobiana (RAM) é um mecanismo natural, que coevoluiu com processo de biossíntese de antimicrobianos há milhões de anos atrás, antes mesmo do início da utilização dos antimicrobianos pela humanidade (D'COSTA, 2011). Uma vez que os solos têm uma alta abundância de microrganismos, é coerente considerá-lo como um grande reservatório de genes de resistência aos antimicrobianos, denominado resistoma ambiental, que inclui aqueles presentes em bactérias patogênicas, comensais e de vida livre (ZHAO et al., 2025). No entanto, o uso intensivo e muitas vezes indiscriminado de antimicrobianos nas clínicas e hospitais (humanos e veterinários) e na agricultura tem intensificado a seleção e disseminação de bactérias resistentes. Essa interferência antrópica pode modificar e aumentar a abundância de genes de resistência no ambiente, especialmente em solos e águas (ALLEGRINI; ZABALAY, 2024).

A coexistência de determinantes de resistência e fatores de virulência representa uma preocupação crescente do ponto de vista epidemiológico. Alguns estudos (SULTANA et al. 2025; SENDRA et al., 2024) recentes têm observado que genes de resistência e de virulência podem coexistir em uma mesma cepa ou mesmo em elementos genéticos móveis compartilhados, o que aumenta o potencial de adaptação, sobrevivência e disseminação bacteriana. Essa associação pode resultar em linhagens com elevada capacidade de causar infecções e, de forma simultânea, diminuir as opções terapêuticas limitadas.

A abordagem Saúde Única (*One Health*) reconhece que as saúdes humana, animal e ambiental não podem ser tratadas de forma isolada, mas sim conectada e que a RAM se desenvolve pela interação contínua entre esses diferentes ambientes. As espécies de *Pseudomonas* spp. exemplificam essa interconexão, uma vez que pode ser encontrada em recursos hídricos, solos agrícolas, sistemas de esgoto, animais de produção, fauna silvestre e seres humanos. A circulação dessas bactérias entre diferentes nichos ecológicos favorece a disseminação de GRAs e virulência, tornando o gênero *Pseudomonas* spp. um excelente modelo de estudos de adaptação microbiana e RAM em diferentes compartimentos (MOHANTY; MISHRA; SASWAT; MOHANTY, 2026; CUEBAS et al., 2024; MAHDI; FAHSI; HIJRI; SOBEH, 2022).

Portanto, com base nessas informações, esta dissertação foi estruturada em dois capítulos. O Capítulo I aborda a caracterização fenotípica dos fatores de virulência e resistência antimicrobiana e em cepas de *Pseudomonas* spp. isoladas de solos florestais, agrícolas e salinos, visando compreender a circulação desses atributos nesses ambientes. O Capítulo II apresenta uma análise *in silico* de genomas de *Pseudomonas* spp. disponíveis no banco de dados públicos NCBI, provenientes de humanos, animais, solo e água, com o objetivo de analisar a distribuição de genes de virulência e resistência aos antimicrobianos. Esta abordagem objetiva elucidar de a circulação desses determinantes em diferentes ambientes sob a perspectiva de Saúde Única.

2. CAPÍTULO I

FATORES DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM CEPAS DE *PSEUDOMONAS* SPP. DE SOLOS DE DIFERENTES ORIGENS

2.1 RESUMO

O solo é uma matriz complexa e dinâmica, que sustenta uma vasta e diversa comunidade microbiana. Esses microrganismos desempenham funções ecológicas importantes, como a decomposição de matéria orgânica, fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento de plantas. No entanto, esse ambiente também representa um reservatório de determinantes de resistência antimicrobiana (RAM) e fatores de virulência. Um gênero que se destaca nos solos é *Pseudomonas* spp., representado por patógenos oportunistas e ubíquos, com ampla distribuição no solo, água e ambientes clínicos. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi caracterizar fenotipicamente fatores de virulência e perfis de RAM em cepas de *Pseudomonas* spp. isoladas de diferentes tipos de solo: 38 de solos agrícolas, 2 de floresta e 13 de solos salinos. Foram realizados testes fenotípicos dos fatores de virulência: proteases, lipases e hemolisinas. Foram conduzidos testes fenotípicos da RAM de acordo com o *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST) de seis antimicrobianos diferentes. Em relação aos fatores de virulência, observou-se que 89% das cepas apresentaram pelo menos um ou nenhum fator. As atividades lipolíticas (47%) e proteolíticas (45%) foram as mais frequentes, enquanto a hemólise foi detectada em 32% das cepas. Em solos agrícolas, predominou-se o perfil proteolítico e lipolítico, enquanto nos solos salinos foi observada maior frequência de atividade hemolítica. Quanto a RAM, 53% das cepas apresentaram resistência a pelo menos um dos seis antimicrobianos testados, com destaque para o aztreonam (36%), ciprofloxacino (23%) e meropenem (19%). Também foram avaliados métodos alternativos (Agar Spot Test [COL-AS] e Drop Test [COL-DT]) para a detecção de resistência à colistina em comparação ao teste de microdiluição em caldo (MDC). Foi verificado que as dez cepas positivas para resistência nos dois testes (COL-AS e COL-DT) tiveram concordância categórica de 100% (10/10) com o MDC. Três cepas (SI276, SI277, SI283) apresentaram concentração inibitória mínima (CIM) maior que 512 mg/L, ultrapassando o limite de detecção do método e superando em mais de 100 vezes o ponto de corte clínico (>4mg/L). Foi identificada multirresistência em três cepas de solos agrícolas. Diante do exposto, os resultados evidenciam que solos sob influência antrópica podem atuar como importantes reservatórios de bactérias resistentes e multirresistentes, além de apresentar fatores de virulência, o que facilita a disseminação para diferentes ambientes.

Palavras-chave: Agricultura. Antibiótico. Colistina. Saúde Única. Toxinas bacterianas.

2.2 ABSTRACT

Soil is a complex and dynamic matrix that supports a vast and diverse microbial community. These microorganisms play essential ecological roles, including organic matter decomposition, biological nitrogen fixation, and plant growth promotion. However, soil also serves as an important reservoir of antimicrobial resistance (AMR) determinants and virulence factors. Among the bacterial genera commonly found in soil, *Pseudomonas* spp. stands out due to its ubiquitous distribution and the presence of opportunistic pathogens widely found in soil, water, and clinical environments. Therefore, the aim of this study was to phenotypically characterize virulence factors and antimicrobial resistance (AMR) profiles of *Pseudomonas* spp. strains isolated from different types of soil, including 38 isolates from agricultural soils, two from native forest soils, and 13 from saline soils. Phenotypic assays were performed to evaluate the production of proteases, lipases, and hemolysins. Antimicrobial susceptibility testing was conducted according to the guidelines of the Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) using six different antimicrobial agents. Regarding virulence factors, 89% of the strains exhibited at least one virulence-associated phenotype. Lipolytic (47%) and proteolytic (45%) activities were the most frequently detected, whereas hemolytic activity was observed in 32% of the isolates. Strains from agricultural soil predominantly exhibited proteolytic and lipolytic activities, while isolates from saline soils showed a higher frequency of hemolytic activity. Regarding AMR, 53% of the strains were resistant to at least one of the six antimicrobials tested, with the highest resistance rates observed for aztreonam (36%), ciprofloxacin (23%), and meropenem (19%). Alternative methods for detecting colistin resistance, namely the Colistin Agar Spot Test (COL-AS) and the Colistin Drop Test (COL-DT), were also evaluated and compared with the reference broth microdilution (BMD) method. The ten strains identified as colistin-resistant by both COL-AS and COL-DT demonstrated 100% categorical agreement (10/10) with the BMD results. Three strains (SI276, SI277, and SI283) exhibited minimum inhibitory concentrations (MICs) greater than 512 mg/L, exceeding the detection limit of the method and surpassing the clinical breakpoint (>4 mg/L) by more than 100-fold. Multidrug resistance was identified in three strains isolated from agricultural soils. Taken together, these findings demonstrate that soils under anthropogenic influence may serve as important reservoirs of resistant and multidrug-resistant bacteria harboring virulence factors, thereby facilitating their persistence and dissemination across different environmental compartments.

Keywords: Agriculture. Antibiotics. Colistin. One Health. Bacterial toxins.

2.3 INTRODUÇÃO

Os solos são ecossistemas diversos, compostos por elementos abióticos e bióticos que interagem entre si de forma dinâmica, sendo essenciais para diversas funções como ciclagem de nutrientes, sequestro de carbono, regulação do clima e serviços ecossistêmicos com fornecimento de água, suporte físico, alimento e bem-estar. A microbiota do solo é abundante, sendo estimado que uma grama de solo possa conter entre 10^8 e 10^9 de células bacterianas (PANDEY; SAHARAN, 2025; ADAL, 2024).

Dentre os microrganismos do solo, as espécies do gênero *Pseudomonas* spp. se destacam como promotoras de crescimento vegetal, fixadoras de nitrogênio, biorremediadoras e no controle de fitopatógenos (CUEBAS et al., 2024; MAHDI; FAHSI; HIJRI; SOBEH, 2022; NANJUNDAPPA et al., 2022). Essas espécies compreendem um grupo de bactérias Gram-negativas, oportunistas e potencialmente patogênicas e ubíquas, amplamente distribuídas no solo, água e em ambientes hospitalares (PITCCHIAH; GANAPATHY; KAMALA, 2026). Essas bactérias apresentam grande capacidade adaptativa, devido a sua elevada plasticidade genômica e versatilidade metabólica (SWAIN et al., 2025). Entre as espécies do gênero, a *P. aeruginosa* se sobressai como um importante patógeno oportunista, capaz de transitar de um microrganismo de vida livre no ambiente para um agente causador de infecções graves em humanos, como pneumonias, doença pulmonar obstrutiva crônica e infecções recorrentes em pacientes com fibrose cística, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (LOO et al., 2026; KINOBE et al., 2026).

Esse gênero apresenta elevada plasticidade ecológica, decorrente da produção de fatores de virulência (FV) que favorecem a adaptação ao solo e à rizosfera. Os principais FV nesse gênero, destacam-se os flagelos e pilis; os sideróforos, como piocianina e pioverdina; enzimas extracelulares, como hemolisinas, toxinas (*toxA*), fosfolipase C (*plcH*) e proteases, como *lasB*, cuja expressão é regulada por sistemas de *quorum sensing* (FIGUEROA et al., 2025; SA, 2026; SWAIN et al., 2025).

No ambiente edáfico, esses mecanismos desempenham funções ecológicas essenciais, incluindo a colonização da rizosfera, aquisição de nutrientes, especialmente ferro e carbono, degradação da matéria orgânica do solo (MOS) e a competição com outros microrganismos (KUMMERLI, 2022). Em solos com elevados teores de MOS, essa versatilidade metabólica favorece a exploração de diferentes nichos ecológicos e contribui para a persistência e adaptação desses microrganismos (AZEVEDO et al., 2024). Apenas posteriormente, ao longo da evolução, esses mesmos atributos passaram a desempenhar papel na colonização e infecção em hospedeiros, sendo reconhecidos, portanto, como FV em espécies oportunistas e patogênicas, como em *P. aeruginosa* (LABORDA et al., 2021).

Além de sua elevada versatilidade ecológica, essas espécies apresentam resistência intrínseca a diversos antimicrobianos, como a baixa permeabilidade da membrana externa, expressão de bombas de efluxo e a produção de enzimas capazes de inativar compostos antimicrobianos. Essas características conferem vantagens adaptativas em ambientes naturais, onde microrganismos competem entre si por recursos e produzem metabólitos com atividade antimicrobiana. Entretanto, a aquisição de mecanismos adicionais de resistência, por mutações ou transferência horizontal de genes (THG), pode resultar em fenótipos multirresistentes.

Na agropecuária, a intensificação do uso do solo e de práticas de manejo, como a aplicação de esterco e fertilizantes orgânicos, irrigação com águas residuárias, uso de antimicrobianos na produção animal, modificam a estrutura das comunidades microbianas e exercem pressão seletiva sobre o resistoma do solo (WU et al., 2025). Essas condições favorecem a persistência de bactérias resistentes e a circulação de elementos genéticos móveis (EGMs) entre bactérias ambientais e oportunistas, ampliando o potencial de disseminação da resistência antimicrobiana (RAM) sob a perspectiva *One Health* (OWAID; AL-OUQAILI,

2025).

Esse gênero, apesar de seu potencial biotecnológico, principalmente na promoção do crescimento vegetal, também desempenha papel relevante na disseminação de genes de resistência antimicrobiana (GRAs) entre o solo, água, animais e humanos (MAHDI; FAHSI; HIJRI; SOBEH, 2022). A elevada similaridade genética de sequências de GRAs encontrados no ambiente, em microrganismos fecais e em patógenos humanos sugere a existência de um reservatório comum e uma intensa troca de material genético. Essa dinâmica é impulsionada pela transferência horizontal de genes (THG), que permite o compartilhamento de GRAs entre espécies bacterianas por meio de EGMs, como plasmídeos, transposons e integrons (NAVA; DANESHIAN; SARMA, 2022).

Frente à crescente resistência a antimicrobianos de amplo espectro, como os carbapenêmicos, a colistina tem sido utilizada como último recurso em hospitais para o tratamento de infecções por *P. aeruginosa*. No entanto, a emergência de cepas de *P. aeruginosa* resistentes à colistina tem sido cada vez mais relatada, o que representa uma preocupação crescente para a saúde pública. Essa resistência pode estar associada à presença de genes móveis do tipo *mcr* e/ou atribuída a mutações em até cinco sistemas reguladores diferentes de dois componentes ((PhoPQ, PmrAB, ParR/S, ColR/S e CprR/S), que favorece a disseminação desse fenótipo entre as bactérias (SNESRUD et al., 2018; SOUSA et al., 2025). No Brasil, foi detectado, pela primeira vez, o gene *mcr* em solos de áreas de produção intensiva de hortaliças e de vegetação nativa, o que evidencia a disseminação ambiental (OLIVEIRA et al., 2019).

Considerando a detecção de genes *mcr* em isolados ambientais, incluindo aqueles provenientes de solos agrícolas, a caracterização fenotípica da resistência à colistina torna-se essencial para compreender o potencial de disseminação desse fenótipo. O método de referência para determinação da suscetibilidade à colistina recomendado pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST) e pelo *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) é a microdiluição em caldo (MDC). Entretanto, sua implementação ainda é limitada em muitos laboratórios, especialmente em países de média e baixa renda, devido ao maior custo, necessidade de insumos específicos e maior demanda operacional (BRCAST, 2026; PASTERAN et al., 2021).

Diante disso, alguns métodos alternativos têm sido propostos para facilitar o acesso ao diagnóstico da resistência, como os testes *Colistin Agar Spot* (COL-AS) e *Colistin Drop Test* (COL-DT). Pasteran et al. (2021) desenvolveram o teste para colistina COL-AS e aperfeiçoaram o COL-DT, originalmente descrito por Jouy et al. (2017). Ambos apresentam elevada concordância categórica com a MDC em diferentes estudos. Assim, partiu-se da hipótese de que esses métodos alternativos apresentariam desempenho semelhante ao método de referência para a detecção da resistência à colistina em isolados de *Pseudomonas* provenientes de solos agrícolas. sua vez, são utilizados como biofertilizantes (AGGA; LOOFT; SISTANI, 2025).

Diversos trabalhos recentes, como de Agga; Looft; Sistani (2025), Atanasova et al. (2025) e Wang et al. (2024), detectaram a alta presença de GRAs em dejetos de aves. Alguns trabalhos observaram que a aplicação de dejetos em solos aumenta a abundância de GRAs e de virulência em solos tratados comparados com os não tratados (AGGA; LOOFT; SISTANI, 2025). Segundo Lopes et al. (2025), que realizou um estudo na mesma região de São José do Vale do Rio Preto, em um ambiente não controlado, forneceu evidências de que o uso de cama de aves como fertilizante orgânico pode influenciar a estrutura e composição do microbioma do solo.

Em contrapartida, estudos recentes indicam que solos salinos apresentam os menores índices de resistência adquirida. De acordo com análises metagenômicas de 2025, a salinidade elevada impõe um filtro seletivo que reduz a abundância de GRAs, uma vez que o custo metabólico de manter EGMs adicionais não é viável em ambientes com elevado estresse

osmótico (GU et al. 2025). Dessa forma, acreditamos que os solos agrícolas terão predomínio de bactérias resistentes comparado aos solos salinos. Além disso, de acordo com a literatura, acreditamos que o manejo agrícola influencia no aumento de GRAs.

Diante dessa dinâmica da RAM em ambientes naturais e impactados, a abordagem de Saúde Única (*One Health*) é essencial para mitigar os riscos à saúde humana, animal e ambiental. Faz-se necessário um maior rigor nas fiscalizações, a implementação de diretrizes mais claras para o controle e monitoramento da RAM, e a intensificação de estudos na área agrícola sobre a disseminação de GRAs (ENSHAIE; NIGAM; PATEL; RAI, 2025; BARATHE et al., 2024; LAWTER et al., 2022). Dessa forma, este trabalho teve por objetivo detectar características fenotípicas de virulência e resistência antimicrobiana em cepas de *Pseudomonas* spp. de solos provenientes de diferentes áreas e históricos de uso. Diante da importância da colistina como um antimicrobiano de último recurso em hospitais para tratamento de infecções em níveis avançados, também objetivamos comparar métodos alternativos para avaliar a susceptibilidade à colistina, COL-DT e *Agar Spot Test* COL-AS, com a MDC.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1 Identificação das áreas e informações de coleta

As amostras de São José do Vale do Rio Preto foram coletadas em outubro de 2022 em três áreas distintas: solo agrícola 1 (SA1), solo agrícola 2 (SA2) e solo de floresta (SF) (Figura 1). Os solos agrícolas são utilizados para o cultivo de hortaliças sob manejo intensivo e irrigação por aspersão com água proveniente do córrego Jequitá. O solo agrícola 1 recebe influência indireta de efluentes oriundos de abatedouros avícolas presentes na região, enquanto o solo agrícola 2 não apresenta essa influência. Vale salientar que o solo agrícola 1 utilizava biofertilizante de cama de aviário desde 1993, mas interrompeu seu uso em 2016, enquanto o solo agrícola 2 se utiliza desde 1993. O solo de floresta corresponde a uma área de vegetação secundária em processo de regeneração. As coletas foram realizadas aleatoriamente em solo não rizosférico, na profundidade de 0–10 cm, utilizando-se um trado. Três amostras simples foram agrupadas para formar uma amostra composta, sendo realizadas três repetições por área amostrada.

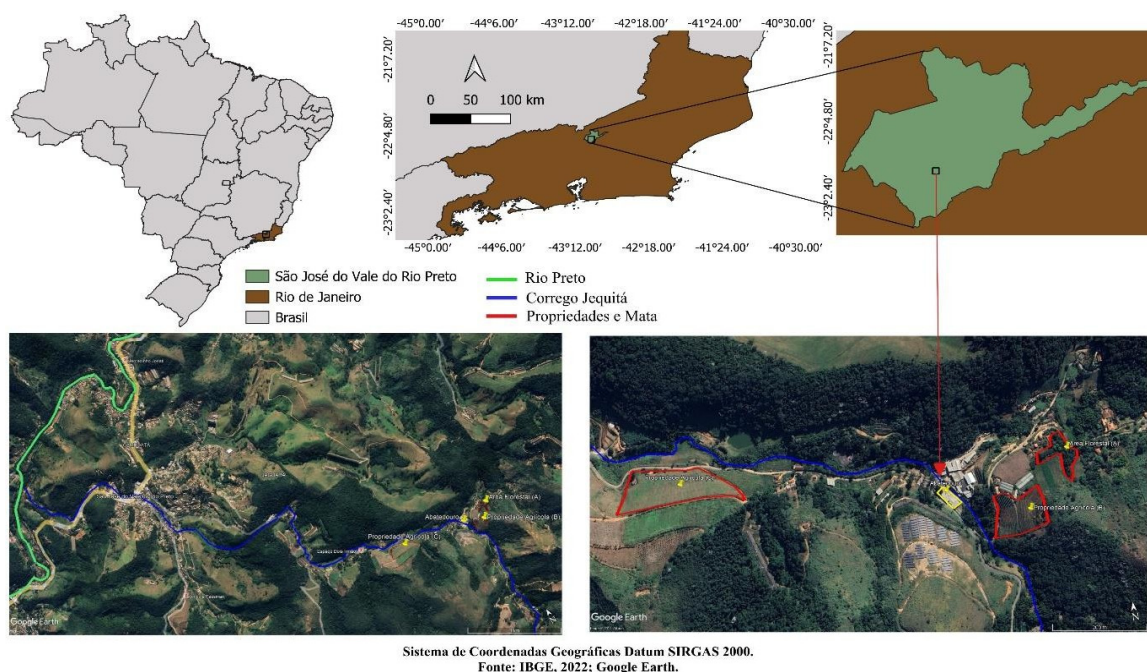


Figura 1. Localizações georreferenciadas dos pontos de coleta de solo em propriedades agrícolas (SA1 e SA2) e na área florestal (FS) no município de São José do Vale do Rio Preto, RJ, Brasil (Acervo da autora, 2024). Fonte: IBGE; Google Earth, 2022.

As amostras de solos salinos foram coletadas em março 2020. Foram selecionados três solos de ambientes salinos para realização do estudo: planícies hipersalinas (Guaratiba-RJ); salina desativada (São Pedro da Aldeia-RJ) e entorno da lagoa hipersalina (Araruama-RJ) (Figura 2). A área de coleta situada no bairro Guaratiba – RJ integra a Reserva Biológica Estadual da Guaratiba na cidade do Rio de Janeiro. O clima é classificado segundo modelo de Köppen como Amg, tropical chuvoso de bosque. O solo nessa área é classificado como Glei pouco Húmico salino solódico (CARVALHO FILHO et al., 2001). Esta área é formada pelo ecossistema mangue, caracterizada por feições chamadas planícies hipersalinas (apicuns). Essas feições são encontradas nas porções mais internas do ecossistema, em que o aporte principal de água é a inundação pelas marés.

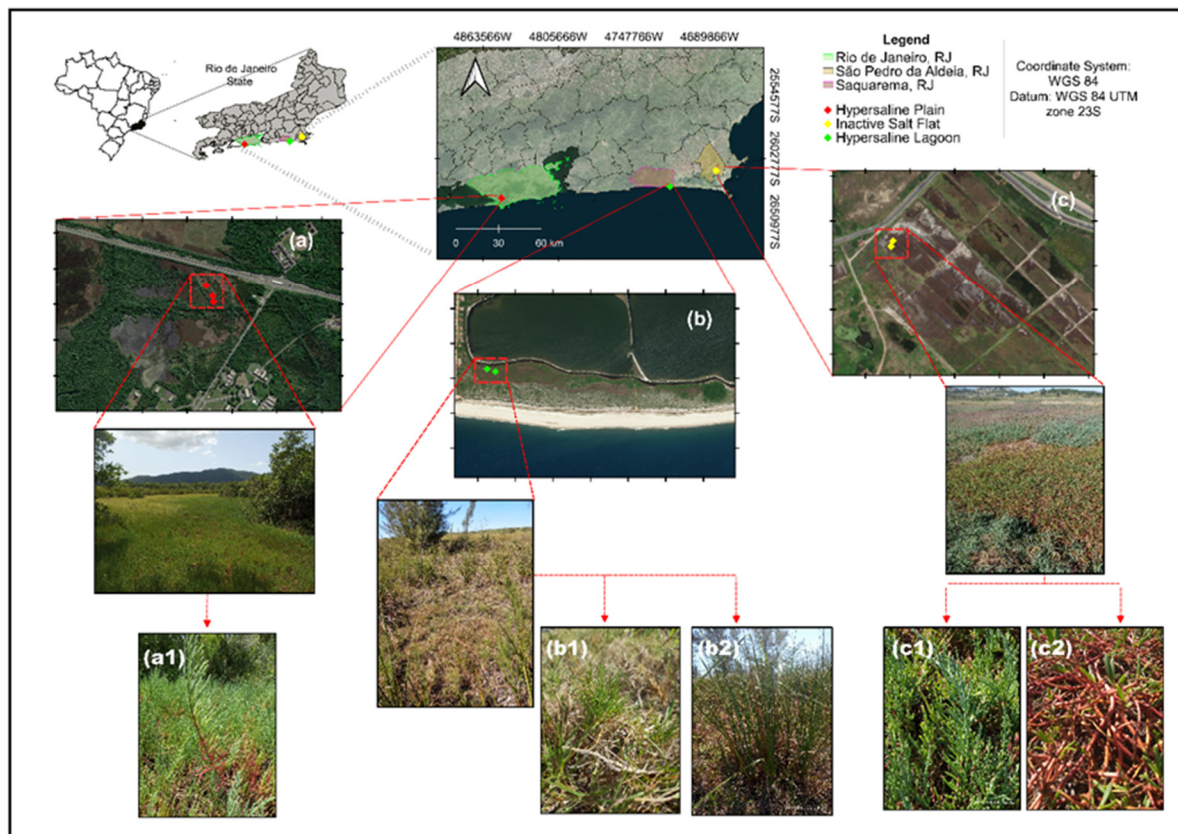


Figura 2. Diagrama representando as áreas de coleta com um mapa da região, localização, paisagem e espécies de plantas presentes. (a) Planície Hipersalina de Guaratiba/RJ - Planta (a1) *Salicornia fruticosa*; (b) Entorno da lagoa hipersalina em Saquarema/RJ - Planta (b1) *Sporobolus virginicus* e planta (b2) *Cyperus ligularis*; (c) Área de salina desativada em São Pedro da Aldeia/RJ - Planta (c1) *S. fruticosa* e (c2) *Blutaparon portulacoides*. Fonte: Elaborado pela Autora.

A área de coleta em São Pedro da Aldeia – RJ foi realizada em uma salina desativada, anteriormente utilizada para extração de sal a partir da água do mar. O clima dessa região é classificado como clima tropical com estação seca (Aw). O solo nessa área é classificado como salinas (CARVALHO FILHO et al., 2001). Nas salinas, as águas do mar ou de lagoas hipersalinas são bombeadas para reservatórios, e, com o calor dos raios solares, a água evapora e assim ocorre a precipitação do sal, que posteriormente é coletado. A coleta em Saquarema - RJ foi realizada nos entornos de uma lagoa hipersalina chamada Lagoa Vermelha. A Lagoa Vermelha é um sistema lagunar costeiro situado entre os municípios de Saquarema e Araruama, região dos lagos do estado do Rio de Janeiro. O clima da região é classificado como Aw, de acordo com a classificação de Köppen. Os solos dessa área são classificados como Podzólico hidromorfo distrófico (CARVALHO FILHO et al., 2001). A formação dessas lagoas é estimulada pelo clima desta região, quente e com déficit de precipitação. A hipersalinidade dessas lagoas favorece a precipitação de sais.

Nas áreas de estudo foram identificadas e coletadas amostras de plantas herbáceas predominantes. As áreas foram percorridas em zig-zag e foram coletadas três amostras aleatoriamente de cada tipo de planta. Em cada ponto de coleta foram determinados o pH, a umidade do solo e a condutividade elétrica com dispositivos portáteis com o intuito de confirmar a salinidade do solo. A coleta do solo e extração do solo rizosférico foram realizados de acordo com McPherson et al. (2018). O solo foi amostrado com uma pá a uma profundidade de 20 cm cortando as raízes laterais que prendem a planta ao solo, formando uma amostra

circular contendo a parte aérea, raízes e solo. As amostras foram colocadas em sacos plásticos e em baldes com identificação. No laboratório, para acessar as raízes, as amostras de solo foram agitadas gentilmente. O solo que se desprendeu foi utilizado para a caracterização química e isolamento de microrganismos.

2.4.2 Origem e identificação das cepas de *Pseudomonas* spp.

Neste trabalho, foram utilizadas 53 bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. Dessas, 40 cepas são provenientes da região de São José do Vale do Rio Preto – RJ, em que 38 foram isoladas de solos provenientes de duas áreas de produção agrícola (SA1 e SA2) e 2 são provenientes de solos de uma floresta secundária (SF) próxima a área agrícola. Além disso, treze bactérias foram isoladas de solos salinos na Região dos Lagos - RJ, (Tabela 1). Informações sobre as características das áreas de isolamento dos microrganismos estão disponíveis no Apêndice A (Tabela 1 e Tabela 2).

Após o isolamento, as bactérias foram identificadas pela técnica MALDI TOF – MS (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight/Mass Spectrometry*) no Laboratório de Investigação em Microbiologia Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). As atividades de acesso ao patrimônio genético brasileiro foram cadastradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), em conformidade com a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, e o Decreto nº 8.772, de 11 de maio de 2016, sob o número de cadastro A5A61FA.

Tabela 1. Distribuição das espécies de *Pseudomonas* spp. isoladas de solo agrícola 1 (SA1), solo agrícola 2 (SA2), solo de floresta (SF) e solo salino (SS).

Espécies	SA	SA2	SF	SS	Total
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				13	13
<i>Pseudomonas montelii</i>	2	1	1		4
<i>Pseudomonas mosselii</i>		1			1
<i>Pseudomonas putida</i>	13	20	1		34
<i>Pseudomonas rhodesiae</i>		1			1
Total	14	23	2	13	53

2.4.3 Detecção fenotípica de fatores de virulência

a) Preparação dos inóculos bacterianos

Para todos os testes de detecção fenotípica de fatores de virulência, a suspensão bacteriana foi preparada a partir de cultura recente (< 24 horas), com turbidez ajustada ao padrão 0,5 da escala de McFarland, correspondendo a aproximadamente $1-2 \times 10^8$ UFC/mL. A inoculação foi realizada por aplicação pontual (*spot*) de 10 µL da suspensão sobre a superfície dos meios sólidos. As placas foram incubadas a 30 °C por 24-48 horas; cepas com crescimento lento foram mantidos por até 72 horas.

b) Protease neutra

A produção de protease neutra foi avaliada em Ágar Skim Milk comercial (Difco), preparado conforme as recomendações do fabricante. Após incubação, a presença de halo transparente ao redor da colônia foi interpretada como resultado positivo, indicando degradação da caseína e atividade proteolítica em pH neutro.

c) Protease alcalina

A detecção de protease alcalina foi realizada em ágar Skim Milk, com pH do meio ajustado para 9,0 após a esterilização, conforme descrito por Jagger; Bahner; Warren, (1983). O ajuste de pH foi realizado com adição gota a gota de solução estéril de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 1 M, sob agitação suave, para evitar floculação ou coagulação do meio. Após incubação, a presença de halo claro ao redor das colônias indicou a atividade proteolítica alcalina.

d) Lipases

A análise qualitativa da produção de lipases foi realizada em meio de cultura suplementado com Tween 80 (20%) e CaCl_2 (10%) de acordo com Janda e Bottone (1981). O princípio do ensaio se baseia na ação da lipase, que hidrolisa o Tween 80, ao liberar ácidos graxos. Na presença dos íons cálcio (Ca^{2+}), esses ácidos formam oleato de cálcio, um sal insolúvel que precipita no meio, que forma um halo leitoso ou opalescente ao redor da colônia, que indica resultado positivo para produção de lipases.

e) Hemolisina

A produção de hemolisinas foi avaliada em Ágar Base acrescido de 5% (v/v) de sangue desfibrinado estéril de carneiro. A detecção de hemolisinas é possível, uma vez que a bactéria degrada os eritrócitos presentes no meio, permitindo distinguir três tipos de hemólise: β -hemólise, caracterizada por um halo transparente ao redor da colônia (hemólise completa), α -hemólise, que apresenta um halo esverdeado devido à oxidação da hemoglobina (hemólise parcial) e γ -hemólise, que indica ausência de degradação, sem alteração no meio.

2.4.4 Detecção fenotípica de resistência antimicrobiana

a) Método de difusão em disco

Os testes de difusão em disco para detecção da resistência fenotípica foram realizados de acordo com os padrões estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST, 2023). Foi preparado um inóculo com $1,5 \times 10^8$ células/mL, ajustados segundo a escala 0,5 de McFarland. Em seguida, 0,1 mL da suspensão bacteriana foi distribuída na superfície do meio Ágar *Mueller Hinton*, onde foram depositados os discos dos antimicrobianos. Posteriormente, as placas foram incubadas por 18 horas a 35 °C. Os diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano formados ao redor dos discos foram medidos em milímetros. Esses valores foram comparados com os pontos de corte estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BRCAST, 2023).

Dessa forma, foram testados antimicrobianos das seguintes classes, em que as cepas do gênero *Pseudomonas* spp. não apresentam fenótipo esperado de resistência: aminoglicosídeo: amicacina (AMI); fluoroquinolona: ciprofloxacino (CIP); e betalactâmicos: aztreonam (ATM), cefepime (CPM), ceftazidima (CAZ) e meropenem (MEM), de acordo com o BrCAST (2023).

b) Teste da gota com colistina

O Teste da gota com colistina (*Colistin Drop Test*) é um método fenotípico de triagem para detecção de resistência à colistina (PASTERAN et al., 2020; LLORENTE; ACERO;

LÓPEZ; FLOREN, 2022). Um inóculo com $1,5 \times 10^8$ células/mL, ajustados segundo a escala 0,5 de McFarland foi preparado, e 0,1 mL da suspensão bacteriana foi distribuída na superfície do meio Ágar *Mueller Hinton*. Posteriormente, foi necessário esperar secar a placa para que 10 µL da solução de colistina (16 µg/mL) fosse depositada no centro da superfície do meio. As placas foram incubadas a 35 °C por 16 a 18 horas. A presença de halo de inibição, independentemente do diâmetro, indica suscetibilidade. Já o crescimento de colônias no interior da zona caracteriza heterorresistência, enquanto a ausência de halo evidencia resistência. (Figura 3).

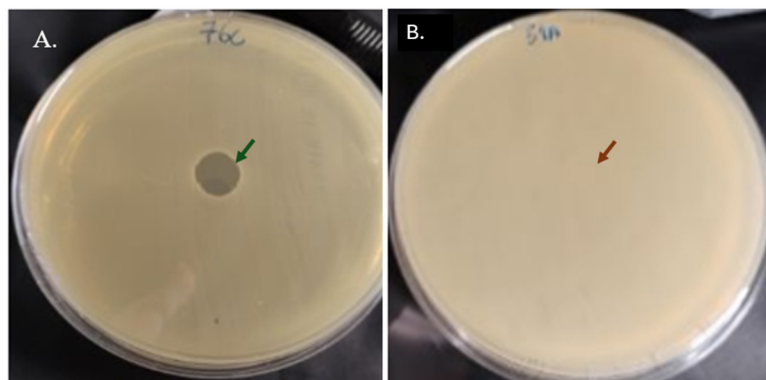


Figura 3. Teste da gota com colistina. A - suspensão de colistina foi inoculado no centro da placa com o meio Mueller-Hinton. A. As cepas que não apresentaram crescimento dentro da área da gota de colistina foram consideradas como sensíveis (seta verde). B - Os que cresceram na zona da gota foram considerados resistentes (seta marrom). Fonte: Acervo de imagens da Autora.

c) Teste do agar spot com colistina

O Teste do *Agar Spot* com colistina (*Colistin Agar Spot Test* – CAST) é um método fenotípico de triagem utilizado para detecção de resistência à colistina (PASTERAN et al., 2020; LLORENTE; ACERO; LÓPEZ; FLOREN, 2022). As placas com ágar Mueller-Hinton suplementado com sulfato de colistina na concentração final de 3 µg/mL foram preparadas. Um inóculo com $1,5 \times 10^8$ células/mL, ajustados segundo a escala 0,5 de McFarland foi preparado; e 0,1 mL foi inoculada pontualmente (*spot*) na superfície do meio. As placas foram incubadas a 35 °C por 16 a 18 horas. A presença de crescimento bacteriano no ponto de inoculação indica resistência à colistina, enquanto a ausência de crescimento indica suscetibilidade (Figura 4).

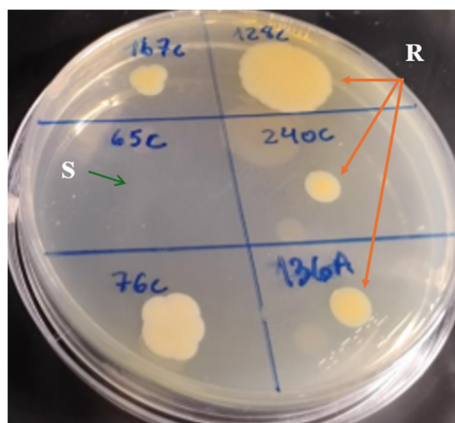


Figura 4. Teste do *Agar Spot* com colistina. *Onde houve crescimento de colônia foi considerado positivo para resistência à colistina (R/setas laranjas). Já as cepas que não cresceram foram consideradas como sensíveis (S/seta verde). Fonte: Acervo de imagens da Autora.

d) Microdiluição em caldo para detecção da concentração inibitória mínima de colistina

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) da colistina foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, seguindo as diretrizes do BrCAST (2026). O teste foi realizado em microplacas estéreis de 96 poços. Inicialmente, 100 μ L de caldo Mueller-Hinton cátions ajustado foram transferidos para os 96 poços da placa. Em todos os poços da primeira coluna (1) foram depositados uma concentração de 512 μ g/mL de solução de colistina e as próximas colunas (até a 11) foram baseadas em diluições seriadas de 1:2 (256, 128, 64, 32, 16, 8,4, 2, 1, 0,5 até 0,25 μ g/mL). Já a coluna 12 não teve o acréscimo do antimicrobiano. A primeira linha (A) foi utilizada como controle estéril, em que não houve inoculação da bactéria, a B foi utilizada como controle negativo, em que a *Escherichia coli* sensível à colistina foi inoculada e a C foi utilizada como controle positivo em que uma cepa de *Serratia* resistente à colistina foi inoculada. Já as linhas de D a H foram inoculadas as cepas a serem testadas (Figura 5).

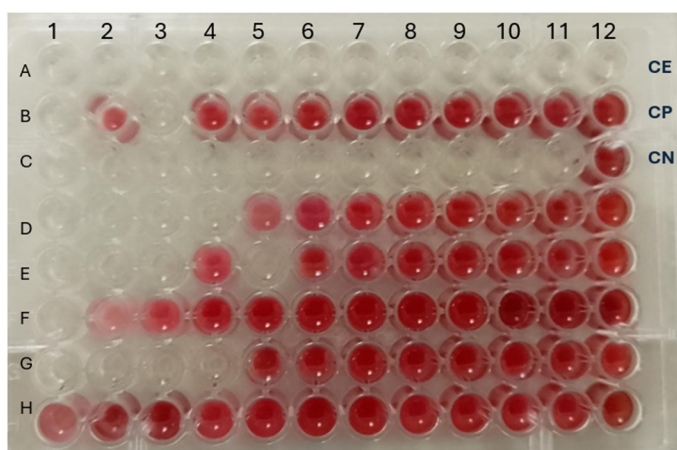


Figura 5. Avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) de colistina por meio do teste de microdiluição em caldo na microplaca de 96 poços. As colunas de 1 ao 11 contêm concentrações decrescentes de colistina (512, 256, 128, 64, 32, 16, 8,4, 2, 1, 0,5 até 0,25 μ g/mL). As linhas A: CE – Controle estéril; Linha B: CP – Controle positivo; Linha C: CN – Controle negativo. Já as linhas D a H utilizadas para avaliar a CIM de colistina de 5 cepas de *Pseudomonas* spp. A cor avermelhada indica crescimento bacteriano, enquanto a ausência de cor indica inibição completa do crescimento. Fonte: Elaborado pela Autora.

A suspensão bacteriana foi preparada a partir de uma cultura recente, ajustando-se a turbidez para o padrão 0,5 da escala de McFarland, o que corresponde aproximadamente a $1-2 \times 10^8$ UFC/mL. Em seguida, são adicionados 100 µL da suspensão bacteriana, após a inoculação, a placa foi incubada na estufa à 35 °C por 16 a 20 horas.

Após o período de incubação, foi adicionado em todos os poços, 20 uL de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) na concentração de 1,25 µg/mL. A presença de coloração avermelhada indica crescimento bacteriano (resultante da reação do tetrazólio com o metabolismo da cepa), enquanto a ausência de cor (poço incolor) indica inibição completa do crescimento. A CIM foi definida como a menor concentração de colistina capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano. Portanto, a *Pseudomonas* spp. será considerada resistente à colistina se apresentar CIM maior que 4 (BRCAST, 2026).

2.5 RESULTADOS

2.5.1. Detecção fenotípica dos fatores de virulência

Os fatores de virulência avaliados, hemolisina, proteases e lipase, apresentaram frequências variando entre 30% e 47% (Figura 6), entretanto, foi observado uma distribuição heterogênea desses fenótipos entre as cepas, uma vez que nem todas as cepas tiveram simultaneamente os mesmos fatores de virulência. Dessa forma, apenas 6/53 (11,32%) cepas (SI196, SI264, SI268, SI270, SI282, SI284) apresentaram todos os fatores analisados (Apêndice A – Tabela 1).

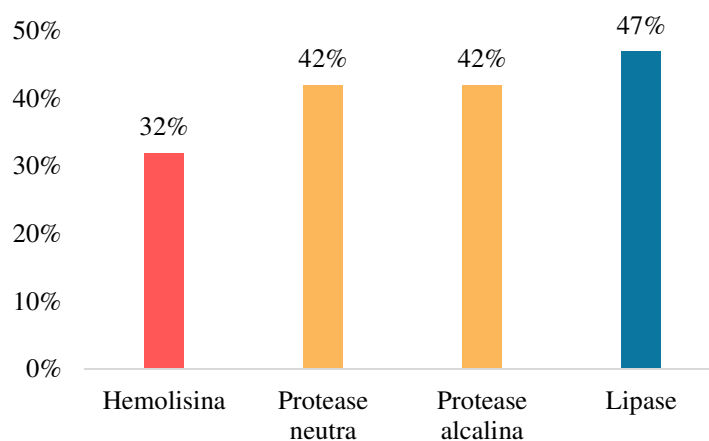


Figura 6. Porcentagem dos fatores de virulência em 53 cepas de *Pseudomonas* spp. isoladas de solos agrícolas e florestais de São José do Vale do Rio Preto e solos salinos na Região dos Lagos – RJ. Fonte: Elaborado pela Autora.

Quase metade das cepas (47% - 25/53) demonstraram a capacidade de degradação de lipídeos. As proteases juntas (neutra e alcalina) foram o segundo fator de virulência mais frequente (45% - 24/53). Já de forma independente, tanto a protease alcalina quanto a neutra obtiveram a mesma frequência de 42% (22/53) cada uma. Vinte e uma cepas apresentaram ambas as enzimas e somente duas apresentaram ou uma ou outra. As hemolisinas foram os fatores de virulência menos frequentes (32% - 17/53).

Os dados indicam que a maioria das cepas de *Pseudomonas* spp. apresentou entre 0 e 1 fatores de virulência, ambos com frequência de 28% (15/53) (Figura 7). Além disso, foi observado que 26% (14/53) das cepas apresentaram 3 fatores de virulência. Já as cepas com 4 fatores foram detectadas em 11% (6/53), enquanto apenas 6% (3/53) bactérias apresentaram 2 fatores de virulência.

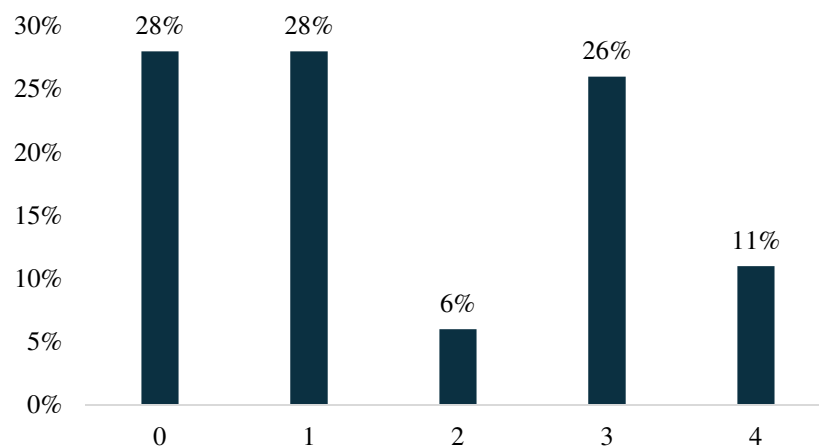


Figura 7. Frequência percentual de fatores de virulência em 53 cepas de *Pseudomonas* spp. isoladas de solos agrícolas e florestais de São José do Vale do Rio Preto e solos salinos na Região dos Lagos – RJ. Fonte: Elaborado pela Autora.

Quanto a origem das bactérias (Figura 8), as cepas de *Pseudomonas* spp. provenientes de solos agrícolas (SA1 e SA2) apresentaram perfil predominantemente proteolítico e lipolítico, enquanto as cepas do solo salino apresentaram maior atividade hemolítica.

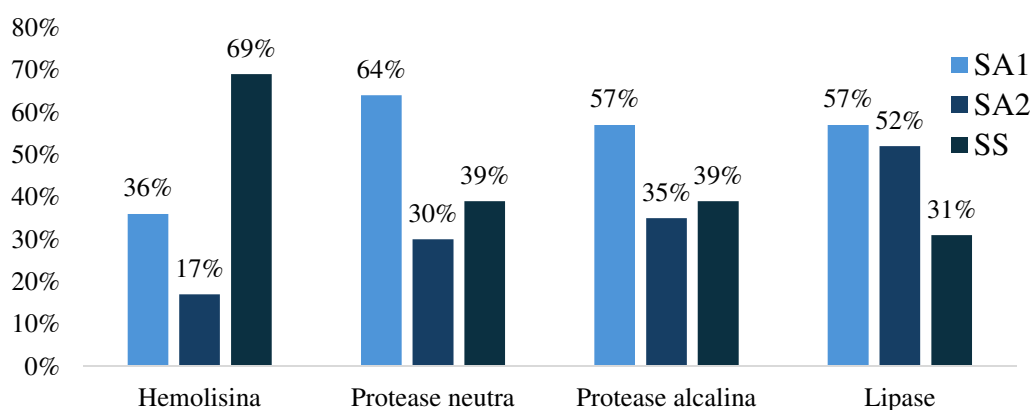


Figura 8. Porcentagem dos fatores de virulência detectados nas 53 cepas de *Pseudomonas* spp. originadas do SA1: Solo Agrícola 1 de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n= 15), SA2: Solo Agrícola 2 de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n= 23), SF: Solo florestal de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n=2), SS: Solo Salino da Região dos Lagos – RJ (n= 13). Fonte: Elaborado pela Autora.

2.5.2 Perfil de resistência antimicrobiana em *Pseudomonas* spp.

Das 53 cepas de *Pseudomonas* spp., 53% (28) foram resistentes a pelo menos um antimicrobiano (Figura 9). As três maiores porcentagens de resistência bacteriana foram aos antimicrobianos aztreonam (ATM; 19/50 – 36%), ciprofloxacino (CIP; 12/50 – 23%) e meropenem (MPM; 10/50 – 19%), respectivamente (Figura 7). Em seguida, os fármacos ceftazidima (CAZ; 7/53 – 13%), cefepime (CPM; 4/53 – 8%) e ampicilina (AMC; 2/53 – 4%) foram os mais eficazes contra *Pseudomonas* spp., o que demonstra uma maior sensibilidade das bactérias a esses antimicrobianos.

Em relação as diferentes classes de antimicrobianos, a classe dos betalactâmicos (aztreonam, meropenem, ceftazidima e cefepima) foi a mais abundante (40/53 – 73%). Nessa

classe, o monobactâmico aztreonam apresentou a maior frequência de resistência, seguido pelo carbapenêmico meropenem e pelas cefalosporinas ceftazidima e cefepima. Em relação a resistência a fluoroquinolona (ciprofloxacino), 23% das cepas apresentaram resistência. Em relação a ampicilina, representante dos aminoglicosídeos, 4% das cepas apresentaram resistência.

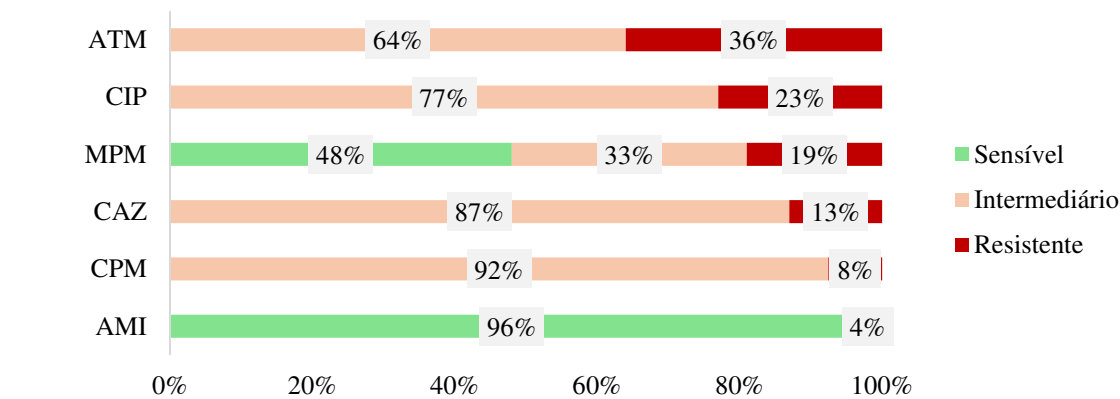


Figura 9. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 53 cepas de *Pseudomonas* spp. isoladas de solos agrícolas e florestais de São José do Vale do Rio Preto e solos salinos na Região dos Lagos – RJ. ATM- Aztreonam betalactâmico - monobactâmico); MPM – Meropenem (betalactâmico - carbapenêmico); CAZ – Ceftazidima (betalactâmico - cefalosporina de terceira geração); CPM – Cefepime (betalactâmico – cefalosporina de quarta geração); CIP – Ciprofloxacina (fluoroquinolona); AMI – Ampicilina (aminoglicosídeo). Fonte: Elaborado pela Autora.

Foram observados 18 perfis de resistência antimicrobiana distintos entre as cepas de *Pseudomonas* spp. (Tabela 2). A espécie *P. putida* se destacou apresentando 17 perfis de resistência diferentes, em contrapartida, todas as cepas de *P. aeruginosa* e *P. rhodesiae* apresentaram apenas o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos avaliados. Dentre os perfis de resistência detectados, os mais frequentes foram os perfis 5 (resistência a ATM) e 10 (resistência a CIP-ATM), representados por 7/53 (13%) e 3/53 (7%) das cepas, respectivamente.

Tabela 2. Antibiotipagem de espécies de *Pseudomonas* spp. oriundas de solos agrícolas, de mata e salinos.

Espécie	Perfil	Resistência antimicrobiana	Freq.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (13)	1	-	13
	1	-	9
	2	MPM	2
	3	CIP	1
<i>Pseudomonas putida</i> (34)	4	CPM	1
	5	ATM	7
	6	CPM-ATM	1
	7	CAZ-ATM	1
	8	CAZ-CIP	1

Continua...

Continuação da Tabela 2.

Espécie	Perfil	Resistência antimicrobiana	Freq.
<i>Pseudomonas putida</i> (34)	9	CIP-MPM	2
	10	CIP-ATM	1
	11	AMI-CAZ-CIP*	1
	12	AMI-CAZ-ATM	1
	13	CIP-CPM-MPM	1
	14	CIP-CPM-ATM	1
	15	CIP-ATM-MPM	1
	16	CAZ-ATM-MPM	2
	17	CAZ-CIP-ATM-MPM	1
<i>Pseudomonas monteilii</i> (4)	1	-	2
	18	ATM-MPM	1
	10	CIP-ATM	1
<i>Pseudomonas mosselii</i> (1)	10	CIP-ATM	1
<i>Pseudomonas rhodesiae</i> (1)	1	-	1

AMI – Amicacina; ATM – Aztreonam; CAZ – Ceftazidima; CIP – Ciprofloxacino; CPM – Cefepima; MPM – Meropenem; O número ao lado da nomenclatura das espécies corresponde ao total das cepas. As classes de antimicrobianos foram diferenciadas por cores, sendo rosa para os beta-lactâmicos, azul para as fluoroquinolonas e preto para os aminoglicosídeos. O asterisco aponta o perfil de resistência antimicrobiana de multirresistência.

A maioria dos perfis de resistência (13/18 – 72%) foram vinculados a 34 cepas de *Pseudomonas* spp., o que demonstra uma alta variabilidade de perfis. Uma cepa de *P. putida* (SI269) apresentou um perfil de multirresistência, com resistência observada a três classes de antimicrobianos testados: ceftazidima (betalactâmicos) ciprofloxacino (fluoroquinolonas) e amicacina (aminoglicosídeos).

Foi verificada multirresistência em *P. putida*, (SI189), resistente aos antimicrobianos amicacina (classe do aminoglicosídeo), ceftazidima (classe dos betalactâmicos) e ao ciprofloxacino (classe das fluoroquinolonas). A multirresistência do tipo MDR (*Multidrug Resistance*) ocorre quando uma bactéria apresenta resistência a três ou mais antimicrobianos de classes distintas.

Em relação as diferentes origens, as cepas isoladas dos solos salinos (todas *P. aeruginosa*) não apresentaram resistência completa (0% de resistência) a nenhum dos antimicrobianos avaliados (Figura 10). Porém, foi observada prevalência (100%) de resistência intermediária para os antimicrobianos: ATM, CIP, CAZ e CPM, o que indica uma redução da suscetibilidade e chances do desenvolvimento de resistência. A salinidade é considerada um dos principais fatores abióticos que influenciam na diversidade e distribuição de genes de resistência aos antimicrobianos (GRAs).

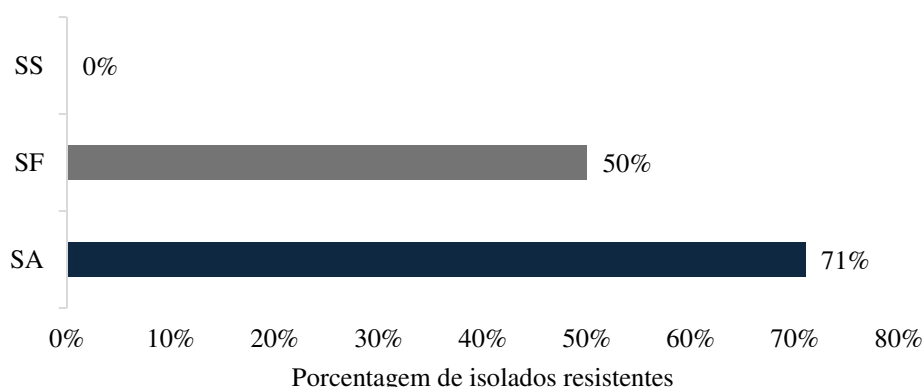


Figura 10. Porcentagem de cepas de *Pseudomonas* spp. resistentes a pelo menos um antimicrobiano considerando as três origens de isolamento: Solos agrícolas (n=38) – soma das cepas do SA1: Solo Agrícola 1 de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n= 15) e SA2: Solo Agrícola 2 de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n= 23), Solos de mata - SF: Solo florestal de São José do Vale do Rio Preto – RJ (n=2), SS: Solo Salino da Região dos Lagos – RJ (n= 13). Fonte: Elaborado pela Autora.

Entre as cepas de *Pseudomonas* spp. provenientes dos dois solos agrícolas (SA1 e SA2), 71% (27/38) apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano. Para entendermos melhor o perfil de resistência nessas cepas, uma análise detalhada é apresentada na Figura 9. Das 15 cepas isoladas do SA1, 9 (60%) foram resistentes a pelo menos um antimicrobiano. Dessas, 6/9 (67%) foram resistentes a um antimicrobiano, 2/9 (22%) a três antimicrobianos e 1/9 (11%) a 2 antimicrobianos (Figura 11A).

Observou-se que 39% das cepas apresentaram resistência ao aztreonam, 23% ao ciprofloxacino, 23% ao meropenem, 15% à ceftazidima e 8% à ampicilina (Figura 11B). Não foi detectada resistência ao cefepime em cepas provenientes do SA1. É importante destacar que embora não tenha sido detectada resistência ao cefepime (CPM) no SA1, todas as 15 cepas foram consideradas como intermediárias a este antimicrobiano. Além disso, foi no SA1 que foi detectado o perfil de multirresistência da cepa *P. putida* resistente a ceftazidima (betalactâmicos), ciprofloxacino (fluoroquinolonas) e ampicilina (aminoglicosídeos).

No SA2, das 23 cepas de *Pseudomonas* spp. 18 (78%) foram resistentes a pelo menos um antimicrobiano. Dessas, 7 (39%) foram resistentes a dois antimicrobianos, 5 (28%) a um, 5 (28%) a três e 1 (6%) a quatro (Figura 11A). Em relação à resistência a antimicrobianos individuais (Figura 11B), 57% das cepas apresentaram resistência ao aztreonam, 35% ao ciprofloxacino, 30% ao meropenem, 22% à ceftazidima, 17% ao cefepime e 4% à ampicilina.

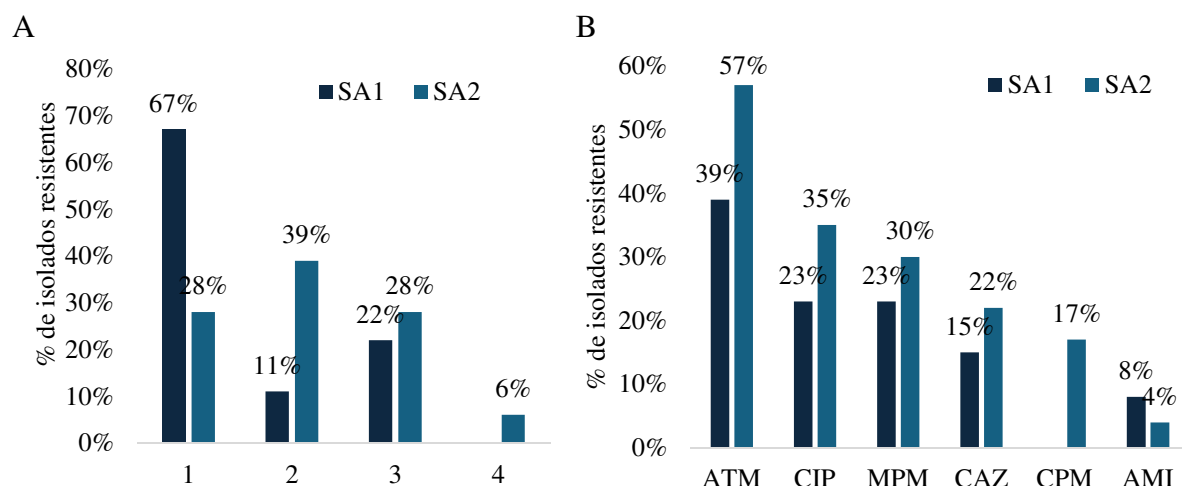


Figura 11. (A) Distribuição percentual das cepas de *Pseudomonas* spp. dos solos agrícolas SA1 e SA2 de acordo com o número de antimicrobianos aos quais apresentaram resistência. (B) Porcentagem das cepas de *Pseudomonas* spp. resistentes a cada antimicrobiano no solo agrícola 1 (SA1) e solo agrícola 2 (SA2). Fonte: Elaborado pela Autora.

2.5.3 Resistência à colistina detectada por diferentes métodos

Após a realização dos testes fenotípicos de resistência às classes dos betalactâmicos, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos, as cepas foram avaliadas quanto à resistência à colistina por diferentes metodologias. Observou-se que 26,4% (14/53) das cepas apresentaram fenótipo de resistência à colistina pelo método de COL-DT e 26,4% (14/53) pelo COL-AS (Figura 12). Dessa forma, 26,4% (14/53) das cepas compartilharam o fenótipo de resistência em ambos os testes.

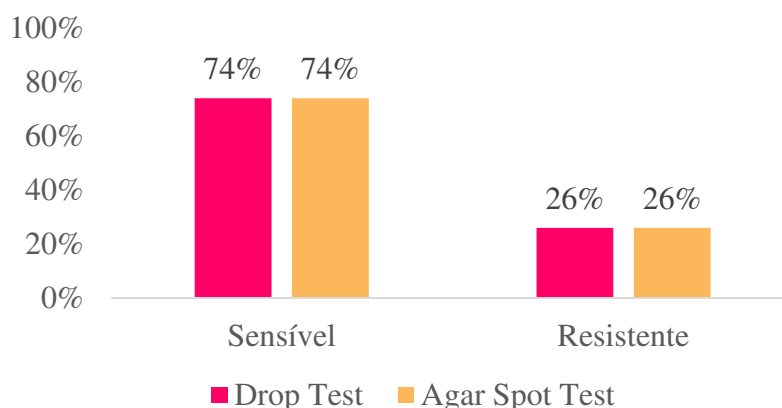


Figura 12. Porcentagem de bactérias sensíveis, heterorresistentes e resistentes à colistina detectadas em metodologias distintas (*Drop Test* e *Agar Spot Test*). Fonte: Elaborado pela Autora.

Em seguida, realizamos o método de microdiluição em caldo (MDC) para detectar a concentração inibitória mínima (CIM) da colistina das bactérias que positivamente apresentaram resistência em ambas as metodologias de COL-AS e COL-DT (Tabela 3). Observou-se que as dez cepas tiveram concordância categórica de 100% (10/10) com o MDC. As cepas SI276, SI277 e SI283 obtiveram os maiores valores de concentração inibitória mínima (CIM) do estudo, uma vez que ultrapassaram o limite do teste, que seria de 512 mg/L, valor extremamente elevado quando comparado ao ponto de corte clínico estabelecido pelo BrCast (2026) para

resistência à colistina (>4 mg/L) (Tabela 1A do apêndice).

As cepas SI152, SI267, SI271, SI273, SI275 e SI280 tiveram o CIM de 512 mg/L, pois apresentaram crescimento até a concentração de 256 mg/L de colistina. Já a SS161 obteve um CIM de 16 mg/L, uma vez que cresceu até o poço com 8 mg/L. Adicionalmente, a confirmação da resistência à colistina permitiu classificar as cepas SI275 e SI277, ambas *P. putida*, como multirresistentes, pois apresentaram resistência às classes dos betalactâmicos, fluoroquinolonas e polimixinas.

Tabela 3. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de cepas de *Pseudomonas* spp. que deram positivo nos testes *Agar Spot Test* e *Drop Test* para colistina.

ID	Área	AMI	CAZ	CIP	CPM	ATM	MPM	N	<i>Agar Spot Test</i>	<i>Drop Test</i>	CIM (mg/L)
SI152	SF	S	I	I	I	I	I	-	R	R	512
SI267	SA2	S	I	I	R	I	S	1	R	R	512
SI271	SA2	S	R	I	I	R	R	3	R	R	512
SI273	SA2	S	I	I	I	R	S	1	R	R	512
SI275	SA2	S	I	R	I	R	I	2	R	R	512
SI276	SA2	S	I	I	I	I	I	-	R	R	>512
SI277	SA1	S	I	R	I	R	R	3	R	R	>512
SI280	SA1	S	I	I	I	R	I	1	R	R	512
SI283	SA1	S	I	I	I	I	I	-	R	R	>512
SS161	SS	S	I	I	I	I	S	-	R	R	16

ID - Identificação; AMI - Amicacina; CAZ - Ceftazidima; CIP - Ciprofloxacino; CPM - Cefepima; ATM - Aztreonam; MPM - Meropenem; N - Número total de antimicrobianos em que as bactérias foram resistentes por cepa. CIM - Concentração inibitória mínima. *S - Sensível; R - Resistente; SF- Solo de floresta; SA1 - Solo agrícola 1; SA2 - Solo agrícola 2; SS - Solo salino.

2.5.4 Co-ocorrência de fatores de virulência e resistência antimicrobiana

Foi observada co-ocorrência de fatores de virulência e resistência antimicrobiana em 20/53 (38%) cepas de *Pseudomonas* spp. Todas as cepas foram dos solos agrícolas, exceto a SI152 (SF) e a SS161 (SS). A SI268 foi resistente a três antimicrobianos, de duas classes distintas (aminoglicosídeos e betalactâmicos) e foi positiva para todos os fatores de virulência testados. Dentro do SA1, 8/15 (53%) tiveram a presença da RAM e fatores de virulência, em que todos que apresentaram as proteases, também apresentaram lipases. Já o SA2, 10/23 (44%) tiveram simultaneidade, mas uma maior heterogeneidade dos fatores de virulência. A SI152, do solo de mata, foi resistente à colistina e teve atividade lipolítica e proteolítica. Já o SI161, do solo salino, apresentou atividade hemolítica e proteolítica e resistência à colistina.

2.6 DISCUSSÃO

Os solos agrícolas juntamente com os microrganismos são essenciais para o sucesso e a produtividade agrícola. Algumas espécies do gênero *Pseudomonas* spp., por exemplo, desempenham funções importantes como fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e potássio, produção de fito-hormônio e biorremediação de poluentes (CUEBAS et al., 2024; MAHDI; FAHSI; HIJRI; SOBEH, 2022; NANJUNDAPPA et al., 2022). Apesar dessas vantagens, existe uma dicotomia, uma vez que essas bactérias também possuem um arsenal de FV e GRAs. Esse arcabouço genético as permite, no solo e na água, fugirem de predadores, competirem com outros microrganismos, obterem nutrientes, como Ferro e Carbono e a se defenderem contra substâncias antimicrobianas (TAN et al., 2025; AMBREETHA; ZICKE; BALACHANDAR; MATHEE, 2024).

Ao longo de milhares de anos, as bactérias evoluíram seu arcabouço genético, priorizando ter genes que facilitavam a sobrevivência e adaptação ao ambiente. Dessa forma, tanto os fatores de virulência e os GRAs tiveram, primeiramente, funções ecológicas nos ambientes, antes da primeira colonização desses microrganismos em hospedeiros humanos e outros animais. Estudos em bactérias da Antártica, geograficamente isolada de atividades antrópicas, observaram diversos GRAs em solos, inclusive em *Pseudomonas* spp. (SILVERIO et al., 2025). Estudos em florestas primitivas, sedimentos marinhos e amostras de solo no Ártico com presença de GRAs já foram documentados (KONG et al., 2025; SHU et al., 2024).

Neste estudo, foi observado que das duas cepas provenientes de solo de mata, uma cepa, a *P. putida* (SI152), teve atividades proteolítica e lipolítica e resistência à colistina. Enquanto a outra, a *P. monteilii* (SI154) foi resistente a fluoroquinolona (ciprofloxacino) e betalacâmico da subclasse do monobactâmico (aztreonam). Embora as amostras de solo florestal (SF) provenham de uma área preservada, o baixo número de cepas (n=2) torna os resultados não representativos para generalizações. No entanto, tanto a detecção de fatores de virulência resistência nesses ambientes é um fenômeno natural, visto que os solos funcionam como um resistoma natural (MAJUMDAR et al. 2026). Além de ser comum bactérias com esses fenótipos, as bactérias também circulam entre os ambientes. Apesar da mata secundária ser um local relativamente afastado da zona urbana, ainda assim fica próximo da cidade que possui muitos abatedouros avícolas e do córrego Jequitá, cuja água pode se tornar um veículo de eventos contínuos de THG. (D’COSTA; GRIFFITHS; WRIGHT, 2007).

Embora seja um fenômeno natural em solos, o manejo agrícola indevido pode potencializar a disseminação de bactérias epidemiologicamente importantes entre diversos ambientes (MAJUMDAR et al., 2026). Estima-se que de 30% a 90% dos antimicrobianos utilizados sejam excretados inalterados por meio dos dejetos animais, atingindo os solos e recursos hídricos (AI-KHAIFAH et al., 2025). A utilização de resíduos animais como biofertilizantes tem sido uma das principais fontes de introdução e persistência de determinantes de resistência no ambiente. (ALLEGRINI; ZABALAY, 2024). Os solos agrícolas têm aproximadamente de 200 a 500 diferentes tipos de GRAs. A aplicação de dejetos tende a depositar de 106 a 108 ARGs por grama de solo, que podem persistir por mais de 20 anos (MAJUMDAR et al., 2026).

Quase metade das cepas apresentaram capacidade de degradação dos lipídeos, o que pode indicar a presença da lipase e sua importância na adaptação ecológica desse grupo. Essas enzimas hidrolisam triglicerídeos, fosfolipídios e outros lipídios complexos, a fim de liberar ácidos graxos que podem ser utilizados como fonte de carbono e energia pela bactéria (ZHA; YAN, 2025). Sendo assim, além de conseguirem obter nutrientes a partir da MOS, a *Pseudomonas* spp. pode provocar danos teciduais que favorece a colonização bacteriana nos hospedeiros (MARTÍN; MEJÍAS; MCCLEAN, 2021).

Nos solos, também foram encontradas bactérias que tiveram capacidade de degradar

proteínas. Essa função é primordial para a degradação da MOS, para obter nutrientes como o N e sobreviver nos ambientes. A única diferença entre protease neutra e protease alcalina é que atuam em faixas de condições ótimas de atividade enzimática e bioquímicas diferentes, o que sugere estratégias complementares de virulência e adaptação ambiental (LIAO et al., 2022).

Quando se refere aos hospedeiros humanos e outros animais, essas enzimas estão relacionadas à degradação de tecidos e de componentes do sistema imunológico, o que favorece a invasão e disseminação bacteriana. Em *P. aeruginosa*, as proteases como elastases A e B (codificadas pelos genes *lasA* e *lasB*), estão associadas à degradação de elastina, fibrinogênio, imunoglobulinas e proteínas do complemento, logo, podem causar lesões pulmonares, hemorragia e falha na resposta imune (LIAO et al., 2022).

As hemolisinas promovem a lise celular e a liberação de compostos intracelulares, incluindo ferro (Fe), um elemento frequentemente limitante para o crescimento bacteriano, o que pode representar uma estratégia vantajosa para a sobrevivência em ambientes com restrição nutricional. (FIGUEROA et al., 2025). O Fe é um cofator comum de enzimas que são essenciais no metabolismo microbiano. E por mais que o Fe seja abundante na crosta terrestre, a sua biodisponibilidade tende a ser baixa, uma vez que o Fe férrico é insolúvel em condições de pH neutro e aeróbias (KUMMERLI, 2023). Além disso, deve-se considerar que 100% das bactérias oriundas do solo salino foram identificadas como *P. aeruginosa*, uma espécie reconhecida pela elevada frequência de fatores de virulência. Assim, a maior atividade hemolítica observada pode refletir tanto características inerentes ao ambiente quanto uma influência taxonômica específica da composição das populações bacterianas analisadas.

Esses resultados refletem uma distribuição heterogênea dos fatores de virulência, com predominância de cepas com poucos fatores de virulência. No entanto, a presença de cepas com três ou quatro fatores demonstra que uma parte das cepas possui maior potencial patogênico, isso pode indicar uma maior capacidade de persistência e sobrevivência nos hospedeiros/ambiente (MARTÍN; MEJÍAS; MCCLEAN, 2021).

Quanto a resistência aos antimicrobianos nesse gênero, a maior resistência ao aztreonam (ATM) observada era esperada, uma vez que esse antimicrobiano possui espectro limitado e sua eficácia é frequentemente comprometida pela ação de betalactamases, principalmente as de espectro estendido (ESBLs) e/ou AmpC. (SARTORI; TOPPO; LAVEZZO, 2026). De forma similar a este estudo, o trabalho de Moursi et al., (2025) avaliou 817 cepas de *P. aeruginosa*, em amostras clínicas, e também detectou a maior porcentagem de bactérias resistentes ao ATM (48,7%) e as mais sensíveis à AMC (83%).

Em contraste, o meropenem, embora, teoricamente, mais eficiente que os outros betalactâmicos testados devido ao seu amplo espectro e alta estabilidade frente às betalactamases, ainda assim 19% das cepas apresentaram resistência a esse antimicrobiano, tornando-o o segundo betalactâmico com maior taxa de resistência observada. A detecção de resistência moderada/elevada ao meropenem em cepas de *Pseudomonas* spp. em solos é particularmente preocupante, uma vez que são medicamentos utilizados em última instância nos hospitais. O surgimento crescente de cepas resistentes a esse antimicrobiano dificulta abordagens terapêuticas contra cepas multirresistentes (MDR), o que ameaça a saúde humana. A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera os carbapenêmicos como antimicrobianos de “Importância Crítica de Altíssimo Risco”. Dessa forma, a ANVISA emite frequentes alertas reforçando o uso racional e rigoroso desses antimicrobianos, devido ao aumento de bactérias multirresistentes produtoras de carbapenemases (WHO, 2019. ANVISA, 2023).

Sabe-se que as enzimas metalobetalactamases (MBLs) e a KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) são enzimas potentes na hidrólise de carbapenêmicos. A enzima KPC é potente contra quase todos os betalactâmicos, ela é codificada por um gene localizado em EGMs, o que resulta na disseminação de GRAs entre os ambientes (FALAHAT; SHOJAPOUR; SADEGUI, 2016). Um artigo recente de Althaferi; Alfouzan; Mustafa (2025) detectou altas taxas de

resistência ao MPM em *P. aeruginosa* (50%) e observaram que o gene *bla_{VIM}* foi o mais prevalente nas cepas resistentes aos carbapenêmicos (33,3% de correspondência) (FAYYAZI et al., 2026). Portanto, possivelmente, as bactérias que tiveram perfis de resistência ao MPM podem ser portadoras de genes que produzem enzimas MBLs e/ou KPC (YUAN et al, 2022; TILAHUN et al., 2021).

Nosso estudo observou, em concordância com outros estudos, uma baixa resistência à amicacina (4%), o que já se era esperado, uma vez que é uma substância utilizada em tratamentos graves, sendo menos utilizada nas clínicas e na pecuária comparado a outros antimicrobianos mais comuns. (RAMIREZ; TOLMASKY, 2017). Muitas bactérias multirresistentes, que são resistentes aos carbapenêmicos e outras classes de antimicrobianos, ainda são suscetíveis aos aminoglicosídeos (THY; TIMSIT; MONTMOLLIN, 2023). Essas bactérias podem desativar os aminoglicosídeos por meio de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos. A enzima AAC(6'), por exemplo, inativa a amicacina, enquanto a AAC(61)-Ib inativa a gentamicina e a tobramicina. Para confirmar essa hipótese, análises genotípicas de genes que conferem resistência aos aminoglicosídeos serão necessárias (ALTHAFERI; ALFOUZAN; MUSTAFA, 2025).

Um aspecto particularmente interessante deste estudo foi a ausência de perfis de resistência entre as cepas de *P. aeruginosa*, apesar dessa espécie ser um patógeno oportunista e geralmente associado às infecções hospitalares (MOHANTY et al., 2026). Em contrapartida, as cepas de *P. putida* apresentaram diferentes e vários perfis de resistência, incluindo multirresistência. Embora a multirresistência em *P. aeruginosa* seja frequentemente relatada em isolados bacterianos clínicos, a detecção de perfis de multirresistência em espécies predominantemente ambientais, como *P. putida*, merece atenção (ARAÚJO et al. 2021).

O estudo genômico de ARAÚJO et al. (2021) observou que espécies de *P. putida* apresentaram um resistoma constituído predominantemente por mecanismos intrínsecos, como bombas de efluxo e genes relacionados à tolerância a compostos tóxicos, enquanto genes de resistência adquiridos foram encontrados principalmente em linhagens clínicas. Da mesma forma, foram detectados FV, como formação de biofilme, motilidade, quimiotaxia, adesão e sistemas de aquisição de ferro por sideróforos. Esses FV desempenham funções ecológicas essenciais no ambiente, favorecendo a colonização da rizosfera, a competição com outros microrganismos, a aquisição de nutrientes e a adaptação a diferentes condições ambientais, não indicando, por si só, elevado potencial patogênico.

A aquisição e manutenção de múltiplos mecanismos de resistência por cepas ambientais sugerem a existência de pressão seletiva no ambiente, possivelmente decorrente da exposição contínua a antimicrobianos, metais pesados e outros contaminantes que podem atuar como agentes de co-seleção. Além disso, espécies ambientais desse gênero são reconhecidas por atuar como importantes reservatórios de GRAs, o que contribui para a THG para bactérias de maior relevância clínica (MICHAELIS; GROHMANN, 2023).

Entre as cepas de *Pseudomonas* spp. provenientes dos dois solos agrícolas (SA1 e SA2), 71% (27/38) apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano. Esse elevado índice de resistência em áreas de cultivo agrícola tem sido relatado em diversos estudos. Por exemplo, estudos tem demonstrado que o uso contínuo de esterco no campo resultou no aporte de cassetes gênicos que carregavam genes *aadA1* e *aadA2* no integron de classe 1. Esses integrons foram recuperados nos dejetos e no solo após a aplicação. Esse tipo de relato está de acordo com outros artigos de cepas clínicas (CHANG et al., 2000; CLARK et al., 1999), mas também de cepas ambientais. Isso sugere que pode haver uma rápida disseminação e circulação de genes de resistência entre bactérias de origem animal, ambiental e humana (BINH et al., 2009).

De forma geral, as bactérias de *Pseudomonas* spp. do solo agrícola SA2 apresentaram um perfil de resistência mais elevado em comparação com as cepas do SA1, evidenciado por um perfil de multirresistência mais abrangente e maiores porcentagens de resistência para a

maioria dos antimicrobianos individuais. Vale salientar que o produtor rural da propriedade agrícola (SA1) não utiliza cama de aviário como fertilizante orgânico desde 2016, enquanto o agricultor da propriedade agrícola 2 (SA2) faz uso de cama de aviário in natura desde 1993.

Um estudo chinês de ZHU et al. (2022) realizou análises metagenômicas em solos agrícolas. Esse estudo também revelou que patógenos bacterianos, FV e ARGs podem ser transferidos para o solo por meio da aplicação dos dejetos animais. Foi observado que os solos adubados com fertilizantes orgânicos, principalmente com esterco suíno, tendem a aumentar a abundância desses genes comparados aos solos que recebem fertilizante químico.

Neste estudo, verificamos a ausência de *P. aeruginosa* resistente em solos salinos, exceto a S161 que foi resistente à colistina. Segundo Guo et al. (2025) foi verificado, por meio de uma análise metagenômica, que a salinidade apresentou correlação negativa significativa em relação a abundância de GRAs, o que sugere que ambientes salinos podem impor pressões seletivas que reduzem a prevalência de GRAs. Isso pode ocorrer devido ao fato de que solos salinos são ambientes de elevado estresse osmótico, nos quais os microrganismos precisam direcionar seus recursos metabólicos para mecanismos de adaptação, como o acúmulo de solutos compatíveis e alterações na composição da membrana celular. Esse investimento energético pode limitar a manutenção de GRAs, especialmente quando estes impõem custo adaptativo e não oferecem vantagem seletiva.

Essa dinâmica de disseminação da RAM no ambiente agrícola é corroborada por estudos que demonstram como bactérias do solo podem compartilhar GRAs com patógenos humanos por meio de THG. Em alguns estudos, foram identificadas bactérias multirresistentes do solo com sequências de genes idênticos aos de patógenos clínicos, incluindo regiões não codificantes e EGMs, o que indica troca genética recente, além de explicar como a resistência se dissemina entre diferentes ambientes (FOSBERG et al., 2012).

Zhao et al. (2025) verificaram uma alta similaridade de sequências entre GRAs do solo e clínico, por meio de análise metagenômica. Essa transferência de genes pode ocorrer onde a interface solo e humanos se sobrepõe, como em áreas agrícolas, portanto, nessas áreas de confluência, as bactérias ambientais se misturam com as humanas. Os solos podem ser vetores para a disseminação de bactérias por meio do vento, escoamento superficial e culturas agrícolas. Sabe-se que as comunidades microbianas do solo e de plantas também apresentam sobreposição no agrupamento taxonômico (LEONARD et al. 2026).

Em um estudo brasileiro de Ferreira et al. (2025) foi realizado um levantamento de artigos sobre a RAM em resíduos animais no Brasil. Foi observado a detecção de resistência fenotípica a diversas classes de antimicrobianos como betalactâmicos, tetraciclina, aminoglicosídeos, sulfonamidas e quinolonas em esterco de aves, bovinos, suínos e ovinos. Esses dados evidenciam que resíduos animais podem atuar como importantes reservatórios de microrganismos resistentes. Por consequência, o manejo agrícola contribui para a disseminação de GRAs no ambiente e entre diferentes espécies, como humanos e animais. (AI-KHALAIFAH et al., 2025). Um estudo da República Tcheca de Dede; Pérez; Elthottová (2025), ao aplicarem esterco com antimicrobianos em solos agrícolas, verificou-se o aumento de GRAs e FV em bactérias do gênero *Acinetobacter* spp. Além disso, notaram que essas espécies isoladas tanto de solos quanto dos esterco sejam patógenos humanos.

Em resposta a essa disseminação da RAM, em 2016, pela Instrução Normativa nº45 de 2016, foi proibido o uso de sulfato de colistina como aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal em todo o território brasileiro. Vale destacar que essa proibição se restringiu ao uso como promotor de crescimento, sendo o uso veterinário terapêutico ainda permitido. Medidas semelhantes foram adotadas globalmente por países como China, Chile, Uruguai, Japão, Coreia do Sul, África do Sul, Nepal e Vietnã (MAPA, 2016; AHMED; ABOUZEED; DAW, 2025). Também em 2016, a Comissão Europeia revogou a autorização da comercialização de medicamentos veterinários que continham colistina

juntamente com outros antimicrobianos para administração oral. A Tailândia avançou com essa medida e proibiu o uso profilático do sulfato de colistina em animais destinados à produção de alimentos.

Devido a essas proibições, faz-se necessário em laboratórios a análise contínua de resistência à colistina. É amplamente reconhecido que o único método validado e recomendado para o teste de resistência à colistina é o de microdiluição em caldo (MDC). No entanto, países de baixa renda e com recursos limitados possuem dificuldades para realizar testes de microdiluição, o que leva à adoção de testes alternativos (OSERI; OTOKUNEFOR; AKOMAH-ABADAIKE, 2024).

Neste estudo, utilizamos 3,0 µg/mL de colistina no COL-AS. O estudo de Pasteran et al. (2020) comparou dosagens diferentes de colistina utilizando esse mesmo teste e observou que a concordância categórica (CC) com o MDC melhorou significativamente ao aumentar a dosagem para 3,0 µg/mL, atingindo 95,4% de CC. O estudo de Llorente; Acero; López; Floren, (2022) concluiu que em *P. aeruginosa*, o COL-DT pode ser utilizado como alternativa mais simples ao MDC. No entanto, os autores ressaltaram que, para detecção de susceptibilidade antimicrobiana, os resultados devem ser confirmados com o MDC. No estudo de Oseri; Otokunefor; Akomah-abadaike, (2024) foi utilizado 2 µg/mL no COL-AS e observaram que esse método era superior ao COL-DT. No entanto, a concordância categoria não atingiu >90% para serem aceitos como métodos alternativos de acordo com Conceição-Neto et al. (2020). Dessa forma, foi sugerido que houvesse aumento das concentrações de colistina, uma vez que a ocorrência de erros pode ser maior em concentrações inibitórias mínimas (CIMs) inferiores (ref).

O gene *mcr* é preocupante, uma vez que confere resistência adquirida à colistina. Esse gene está localizado em plasmídeos, o que facilita a disseminação, por THG, de resistência à colistina. Ele codifica uma enzima do tipo fosfoetanolamina transferase, que adiciona grupos fosfoetanolamina ao lipídio A, componente do lipopolissacarídeo (LPS) da membrana externa bacteriana. Essa modificação reduz a carga negativa da superfície celular, o qual diminui a afinidade de ligação da colistina ao LPS e, por consequência, sua atividade antimicrobiana (KOBBS et al., 2020). A colistina possui uma forte adsorção às partículas do solo, apesar disso, a sua biodisponibilidade para as plantas não é bem compreendida. A transferência para as plantas é preocupante, uma vez que podem entrar na cadeia alimentar e gerar pressões seletivas em humanos e animais (GREFF POSGAY; LAKATOS; VARGA, 2026). Esse antimicrobiano é um dos últimos recursos terapêuticos disponíveis para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes (LIU et al., 2024).

Diversos estudos demonstram a presença de genes *mcr* em dejetos animais em diferentes espécies como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Pantoea* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp. e diversas outras (GREFF; POSGAY; LAKATOS; VARGA, 2026). Kobs et al. (2020) identificaram bactérias da família Enterobacteriaceae portadoras do gene *mcr-1* em animais de companhia enquanto Oliveira et al. (2019) detectaram esse mesmo gene em solos de áreas de produção intensiva de hortaliças e de vegetação nativa, evidenciando a disseminação ambiental.

Observamos a co-ocorrência de FV e RAM nas cepas de *Pseudomonas* spp. Essa simultaneidade é relatada em numerosos estudos. O estudo de Su et al. (2022) notou que GRAs e FV tendem a coexistir em terra agrícolas com aplicação de fertilizantes orgânicos. Também foi observada no estudo de YU et al. (2026), uma alta tendência desses mecanismos estarem conservados juntos em solos agrícolas, inclusive em *P. aeruginosa*. De acordo com Pan et al. (2020), após analisarem mais de 9.070 genomas completos de diferentes filos bacterianos, observaram que os GRAs e genes de virulência nas bactérias analisadas estão mais frequentemente localizados com uma menor distância intergênica entre EGMs, o que aumenta a probabilidade de serem transferidos para outras bactérias, principalmente entre espécies

patogênicas originadas de humanos e animais.

Um estudo chinês de Zhang et al. (2026) feito por análise metagenômica de bactérias de solos, verificou que metais como o Fe, Cr e Cu aumentaram a taxa de co-ocorrência de GRAs e de genes de virulência. Os ambientes agrícolas, por receberem resíduos de antimicrobianos, pesticidas, geralmente acumulam metais pesados. Segundo LI et al. (2022), os dejetos animais são uma das principais fontes de metais pesados (MP), antimicrobianos e GRAs em solos agrícolas. Diversos estudos demonstram que os MP aumentam a RAM. Isso ocorre, uma vez que mecanismos de resistência aos MP também ajudam a bactéria a se defender contra os antimicrobianos (ZHANG et al., 2023).

Esse processo pode ocorrer devido a co-seleção (diferentes GRAs estão localizados em um mesmo plasmídeo), ou também por resistência cruzada (um mesmo mecanismo genético fornece à bactéria resistência a múltiplos compostos químicos). Dessa maneira, uma mesma bomba de efluxo pode ser capaz de eliminar MP, antimicrobianos, detergentes e outras moléculas (MAZHAR et al., 2021; ZHANG et al., 2023). Portanto, análises e correlações futuras de MP, GRAs e FV serão necessárias. Essas características ameaçam à saúde do solo e à saúde humana. (SUN et al., 2025).

Sob uma perspectiva da Saúde Única (*One Health*), a presença de *Pseudomonas* spp. ambientais com esse conjunto de características é relevante, uma vez que esses ambientes podem atuar como reservatórios de genes de virulência e resistência aos antimicrobianos, com potencial de disseminação para ambientes clínicos. Além disso, a ocorrência dessas bactérias em solos agrícolas aumenta o risco de contaminação de alimentos e a exposição de animais e seres humanos. Observa-se, portanto, um efeito integrado entre ambiente, práticas agrícolas e ambiente hospitalar, no qual a disseminação de bactérias com elevado potencial adaptativo contribui para a persistência e propagação dos microrganismos com diversos FV e GRAs em escala global (CUEBAS et al., 2024; TAN et al., 2025; AZAM; KHAN, 2019; KUANG et al., 2020).

2.7 CONCLUSÃO

As práticas agrícolas, especialmente o uso contínuo de cama de aviário *in natura*, exercem pressão seletiva sobre a microbiota do solo, favorecendo a seleção de cepas com fatores de virulência e perfis de resistência a antimicrobianos, conforme observado na comparação entre os solos agrícolas SA1 e SA2. Diante desses achados, recomenda-se que resíduos orgânicos destinados à fertilização agrícola sejam previamente submetidos a processos de tratamento, como a compostagem, preferencialmente associada ao *biochar*, visando reduzir a carga microbiana, os genes de resistência a antimicrobianos e outros contaminantes biológicos. Além disso, a adoção de boas práticas de manejo e o monitoramento periódico da qualidade microbiológica desses biofertilizantes podem contribuir para minimizar a disseminação da resistência antimicrobiana no ambiente e promover uma agricultura mais sustentável e segura.

A avaliação de métodos alternativos para detecção da resistência à colistina demonstrou potencial como estratégia para ampliar o acesso ao diagnóstico em países de baixa e média renda. Entretanto, o tamanho amostral utilizado nesta etapa ainda é limitado, sendo necessária sua ampliação para confirmar a robustez e a aplicabilidade dos resultados.

De forma geral, os achados deste estudo evidenciam a necessidade de intensificar o monitoramento da resistência antimicrobiana em ambientes agrícolas e de aprofundar a caracterização molecular das cepas resistentes, visando compreender os mecanismos genéticos envolvidos, seu potencial de disseminação e suas implicações para a saúde humana, animal e ambiental, dentro da perspectiva de Saúde Única (*One Health*).

3. CAPÍTULO II

ANÁLISE IN SILICO DA VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM *PSEUDOMONAS* SPP. SOB A PERSPECTIVA DE SAÚDE ÚNICA

3.1 RESUMO

O gênero *Pseudomonas* spp. abrange bactérias Gram-negativas, ubíquas, conhecidas por sua elevada plasticidade genômica e por um amplo repertório de genes associados à resistência e virulência. Esses fatores conferem capacidade de adaptação, sobrevivência em ambientes hostis e persistência no hospedeiro, o que favorece sua disseminação em diversos nichos ecológicos. Diante disso, a abordagem de *One Health* é essencial, permitindo uma visão mais abrangente da circulação de patógenos, fatores de virulência e resistência antimicrobiana entre seres humanos, animais e o ambiente. O uso de ferramentas de bioinformática para a análise *in silico* tem se tornado cada vez mais frequente, principalmente devido aos avanços nas tecnologias de sequenciamento genômico que, por consequência, resultaram em numerosos dados disponíveis na plataforma NCBI. Essas abordagens têm facilitado a compreensão da resistência antimicrobiana (RAM), bem como a associação da RAM com a virulência. Baseado nisso, este estudo analisou genomas de *Pseudomonas* spp. obtidos do NCBI e categorizados por origem (humano, animal, solo, água). Os genes de resistência aos antimicrobianos (GRAs) e virulência foram identificados em cada genoma utilizando as ferramentas *Resistance Gene Identifier* (RGI) e *Virulence Factor Database* (VFDB), respectivamente. Foram calculadas a prevalência desses genes e a correlação entre resistência e virulência. Foram recuperados 1955 genomas de *Pseudomonas* spp., sendo 1179 de origem humana, 108 animal, 545 de solo e 123 de água. A *P. aeruginosa* foi a espécie mais predominante em amostras de origem humana, seguida por genomas de origem animal, enquanto as origens ambientais apresentaram maior diversidade de espécies. Os genomas de origem humana e animal apresentaram maior abundância e diversidade de fatores de virulência e GRAs, quando comparados aos provenientes de ambientes naturais. Foram identificados 249 genes de virulência distintos, sendo os genes *fliG* e *flgG* os mais prevalentes, detectados em 99,4% dos genomas. A maioria dos genomas, 1954/1955 (99,9%) apresentaram pelo menos um gene de resistência antimicrobiana, destacando-se os genes adquiridos *vanW* (67%), *bla_{OXA}* (64%), *aph(3')* (63,5%) e *bla_{OXA50-like}* (63,2%). No entanto, apesar de ambientes naturais terem baixa incidência, ainda assim, foram detectadas cepas que acumularam mais de 60 genes de resistência, o que pode ser um desafio, uma vez que podem transferir horizontalmente seus GRAs por meio de elementos genéticos móveis. Além disso, foi observada correlação positiva significativa entre o número de genes de resistência e fatores de virulência (*Spearman's* $\rho = 0,67$; $p = 3,45 \times 10^{-254}$), o que indica que genomas com maior potencial de resistência tendem também a apresentar maior repertório de fatores associados à patogenicidade. A circulação da virulência e resistência a antimicrobianos em *Pseudomonas* spp. dos diferentes ambientes reforça a necessidade de estratégias de vigilância integradas baseadas na perspectiva *One Health* para o monitoramento e controle da disseminação dessas bactérias que carregam GRAs.

Palavras-chave: Antibiótico. Genes. One Health. Solo.

3.2 ABSTRACT

The genus *Pseudomonas* spp. comprises ubiquitous Gram-negative bacteria known for their remarkable genomic plasticity and extensive repertoire of genes associated with antimicrobial resistance and virulence. These characteristics confer a high capacity for adaptation, survival under adverse conditions, and persistence within hosts, facilitating their dissemination across diverse ecological niches. In this context, the One Health approach is essential, as it provides a comprehensive framework for understanding the circulation of pathogens, virulence determinants, and antimicrobial resistance among humans, animals, and the environment. The use of bioinformatics tools for silico analyses has become increasingly common, particularly due to advances in genomic sequencing technologies, which have generated vast amounts of publicly available data in repositories such as the NCBI database. These approaches have significantly improved our understanding of antimicrobial resistance (AMR) and its relationship with bacterial virulence. Therefore, this study analyzed *Pseudomonas* spp. genomes retrieved from the NCBI database and categorized according to their source (human, animal, soil, and water). Antimicrobial resistance genes (ARGs) and virulence genes were identified using the Resistance Gene Identifier (RGI) and the Virulence Factor Database (VFDB), respectively. Gene prevalence and correlations between resistance and virulence were subsequently assessed. A total of 1,955 *Pseudomonas* spp. genomes recovered, including 1,179 from human resources, 108 from animals, 545 from soil, and 123 from water. *Pseudomonas aeruginosa* was the predominant species among human-derived genomes, followed by animal-derived genomes, whereas environmental sources exhibited greater species diversity. Genomes from human and animal origins showed higher abundance and diversity of virulence factors and ARGs compared with those obtained from natural environments. A total of 249 distinct virulence genes were identified, with *fliG* and *flgG* being the most prevalent, detected in 99.4% of the genomes. Nearly all genomes (1,954/1,955; 99.9%) carried at least one antimicrobial resistance gene, with the acquired gene *vanW* (67%), *blaOXA* (64%), *aph(3')* (63.5%), and *blaOXA50-like* (63.2%) being the most frequently detected. Although environmental sources showed a lower overall incidence of resistance genes, strains harboring more than 60 ARGs were still identified in these settings. This finding is concerning, as such strains may contribute to the horizontal transfer of resistance determinants through mobile genetic elements. Furthermore, a significant positive correlation was observed between the number of resistance genes and virulence factors (Spearman's $\rho = 0.67$; $p = 3.45 \times 10^{-254}$), suggesting that genomes with a greater resistance potential also tend to possess a broader repertoire of pathogenicity-associated factors. The circulation of virulence and antimicrobial resistance determinants in *Pseudomonas* spp. across different environments highlights the importance of integrated surveillance strategies based on the One Health perspective to monitor and control the spread of these bacteria carrying ARGs.

Keywords: Antibiotic. Genes. One Health. Soil.

3.3 INTRODUÇÃO

O gênero *Pseudomonas* spp. compreende um grupo filogeneticamente diverso de bactérias Gram-negativas, com ampla distribuição em ambientes aquáticos, terrestres, hospitalares e até mesmo em ambientes extremos, como a Antártica (SILVERIO et al., 2025). Essas bactérias são reconhecidas por serem metabolicamente versáteis, com elevada adaptabilidade ecológica e significativa relevância médica. A presença de *Pseudomonas* spp. em diferentes ambientes como solo, água, animais e humanos, ressalta a necessidade de uma abordagem de Saúde Única (*One Health*) para compreender sua epidemiologia e o impacto na saúde global.

A capacidade de *Pseudomonas* spp. em se adaptar a diversos ambientes está intrinsecamente ligada à presença de diversos fatores de virulência (FV) como toxinas, sideróforos, elastases, adesinas, e a formação de biofilmes, que confere proteção física contra estresses ambientais e antimicrobianos. Entre os principais genes associados a esses mecanismos destacam-se o *toxA*, responsável pela produção da exotoxina A; *pvdA*, envolvido na síntese do sideróforo pioverdina a fim de adquirir ferro; o *lasB* que codifica a elastase, responsável pela degradação tecidual no hospedeiro; *pilA* e *fliC*, associados à adesão e motilidade; e *algD*, importante na biossíntese de alginato e na formação de biofilmes (QIN et al., 2022; SARKHEILI; SANA; ASLI; DAGHDARI, 2025; RUTHERFORD; BASSLER, 2012). Além desses FV, essas bactérias também podem apresentar diferentes mecanismos de resistência aos antimicrobianos (RAM) (HORCAJADA et al., 2019).

A resistência a antimicrobianos (RAM) é uma preocupação crescente para a saúde pública global, uma vez que os tratamentos contra infecções bacterianas têm se tornado ineficazes em hospitais. A espécie *P. aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos, foi classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um patógeno de prioridade crítica, na Lista de Patógenos Bacterianos Prioritários. Além disso, a *P. aeruginosa* foi enquadrada no grupo ESKAPE, que inclui espécies/gêneros classificadas como multirresistentes e altamente virulentas como *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e *P. aeruginosa* e *Enterobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos. Por consequência, representam uma ameaça a saúde pública global (CUI et al., 2026; CHAGAS et al., 2025; OLIVEIRA et al., 2020).

Em geral, o gênero *Pseudomonas* spp. apresenta diversos mecanismos de resistência, que podem ser intrínsecos (natural da bactéria) ou adquiridos (pela aquisição de genes de resistência). Entre os mecanismos de resistência intrínseca mais relevantes, destacam-se bombas de efluxo, produção de enzimas inativadoras, como betalactamases cromossômicas, além da redução da permeabilidade da membrana. Entre os principais genes responsáveis pela resistência intrínseca destacam-se a cefalosporinase cromossômica do tipo AmpC (*blaAmpC*), (BARTH et al., 2025), além dos sistemas de efluxo *mexAB-oprM*, *mexXY*, *mexCD-oprJ* e *mexEF-oprN*, amplamente associados à resistência a betalactâmicos, quinolonas, aminoglicosídeos e outras classes de antimicrobianos (HORCAJADA et al., 2019).

Já a resistência adquirida pode ocorrer devido a transferência horizontal de genes (THG). Esses mecanismos são essenciais para a evolução da RAM entre as bactérias (PARTRIDGE et al., 2018). Diversas carbapenemases foram detectadas nesse gênero, como as enzimas da classe A de Ambler (KPC, SME, NMC e GES) (VILLEGAS et al., 2007), metalobetalactamases da classe B (VIM, IMP, GIM, SMP, NDM) (SOUSA et al., 2025; NORDMANN; NAAS; POIREL, 2011) e betalactamases da classe D (*bla_{OXA10}*, *bla_{OXA48}*, *bla_{OXA23}*) (LEE et al., 2024). Essas enzimas promovem hidrólise dos betalactâmicos e estão frequentemente associadas a elementos genéticos móveis, como plasmídeos, integrons e transposons, o que favorece a disseminação da RAM entre diferentes cepas e espécies bacterianas.

Tradicionalmente, as pesquisas sobre RAM têm se concentrado em cepas clínicas originadas de humanos e em menor quantidade de animais, muitas vezes negligenciando a importância dos ambientes naturais como reservatórios de resistência (LI et al., 2026; JIN et al., 2025; GLASHUTTER; WIJESINGHE; MATSUBARA, 2025). Embora os estudos clínicos sejam importantes, o solo tem sido reconhecido como um reservatório de genes de resistência, enquanto corpos hídricos como um potencializador dessa transferência para outros ambientes, animais e humanos. Apesar de estudos demonstrarem que a RAM está mais concentrada em amostras humanas e animais, a sua propagação ocorre facilmente pelo solo e água, especialmente por meio de aporte de dejetos animais, águas de irrigação e contaminação dos recursos hídricos (SASSI et al., 2025; SLOBODIUK et al., 2021).

Esses ambientes favorecem a THG, permitindo que sequências sejam compartilhadas entre bactérias ambientais e patógenos clínicos, muitas vezes, altamente virulentos, o que permite o aumento da circulação desses genes no ambiente e a persistência dessas bactérias nos hospedeiros (SU et al., 2022; SLOBODIUK et al., 2021). A disseminação de genes de virulência e resistência a antimicrobianos ocorre principalmente meio de elementos genéticos móveis (EGMs) como plasmídeos, integrons e transposons. Esses EGMs contribuem para a disseminação da virulência e resistência entre cepas bacterianas de origens clínicas e ambientais (PARTRIDGE et al., 2018).

Diante do avanço das ferramentas de bioinformática e do crescente volume de genomas disponíveis em plataformas públicas como o NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) (FELDGARDEN et al., 2021), as análises *in silico* tornaram-se promissoras para a investigação da diversidade genética em bactérias. Essa abordagem permite uma análise comparativa, revelando padrões de distribuição de genes de resistência e virulência em muitos genomas. A análise genômica de cepas de *Pseudomonas* spp. provenientes de humanos e animais e de ambientais naturais como solo e água é fundamental para a compreensão da circulação de genes de resistência e virulência. Portanto, o presente estudo teve como objetivo analisar, por meio da abordagem *in silico*, a distribuição e a correlação de genes de virulência e resistência antimicrobiana em genomas do gênero *Pseudomonas* spp. disponíveis no NCBI, provenientes de diferentes origens (humana, animal, solo e água), sob a perspectiva de Saúde Única.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1. Obtenção e seleção de genomas de *Pseudomonas* spp.

A obtenção dos genomas das cepas pertencentes ao gênero *Pseudomonas* spp. foi realizada a partir de registros disponíveis no banco de dados *BioSample* do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). A busca foi realizada no dia 24 de setembro de 2025 utilizando o termo “*Pseudomonas*” [Organism] AND “*attribute isolate*” [filter] AND “*NOT metagenome*” [All Fields], com o objetivo de recuperar exclusivamente amostras associadas a genomas individuais, excluindo registros metagenômicos. Os identificadores *BioSample* (SAMN) resultantes foram extraídos utilizando as ferramentas de linha de comando do NCBI Entrez Direct (EDirect), por meio dos comandos *esearch* e *efetch*. Para cada registro, foram extraídas informações de metadados disponíveis no NCBI como “isolation source”, “env. material”, “env. biome”, “env. medium”, “plant product”, “plant body.site”, “env. feature”, “host”, “culture.collection”, “sample.comment”.

Os dados obtidos foram organizados em uma planilha e submetidos a um processo de curadoria visando à classificação da origem ambiental dos genomas. A categorização foi realizada com base na análise integrada dos metadados disponíveis, permitindo a classificação dos genomas em quatro grupos principais: humano, animal, solo e água. Registros que apresentaram informações insuficientes, inconsistentes ou ambíguas para a determinação inequívoca de sua origem foram excluídos da análise. A busca inicial resultou em 3.036 registros *BioSample*, dos quais 1.955 registros foram mantidos após o processo de curadoria.

Os identificadores *BioSample* categorizados foram utilizados para recuperar os respectivos números de genomas montados (assemblies) por meio das ferramentas EDirect, utilizando os comandos *elink*, *esummary* e *xtract*, que permitem a associação automática entre registros *BioSample* e Assembly no NCBI. Os assemblies correspondentes foram recuperados e baixados no formato FASTA nucleotídico (.fna).

3.4.2. Identificação dos genes de resistência a antimicrobianos

A identificação de genes de resistência a antimicrobianos (GRAs) foi realizada utilizando a ferramenta *Resistance Gene Identifier* (RGI), que emprega algoritmos de similaridade e modelos curados para detectar determinantes de resistência a partir de homologia de sequência e variantes específicas. Para cada genoma, foram extraídas informações sobre famílias gênicas, as classes de antimicrobianos às quais o gene confere resistência e os mecanismos de resistência, que posteriormente foram organizadas em tabelas para o cálculo da prevalência.

3.4.3. Identificação dos genes de virulência

A identificação de genes de virulência foi realizada utilizando o *Virulence Factor Database* (VFDB). O VFDB é um banco de dados abrangente e curado que cataloga fatores de virulência bacterianos, permitindo a detecção de genes associados à patogenicidade com base em homologia de sequência. Ao final, foi organizada uma matriz contendo a presença e a identidade dos genes de virulência identificados contendo o número total de fatores de virulência, para posteriormente serem organizados em tabelas para o cálculo da prevalência.

3.4.4. Análises estatísticas

A prevalência de cada família de genes de resistência e dos genes de virulência foi calculada considerando a proporção de genomas que continham determinado gene em relação

ao número total de genomas analisados em cada grupo. A prevalência de cada gene foi calculada como a porcentagem de genomas contendo o gene em relação ao número total de genomas analisados, de acordo com a Equação 1:

$$\text{Prevalência (\%)} = \frac{n_i}{N} \times 100 \quad (1)$$

Em que n_i representa o número de genomas contendo o gene e N o número total de genomas avaliados.

As relações entre a resistência antimicrobiana e fatores de virulência foram avaliadas por meio de análises de correlação de *Spearman*. Para esta comparação foram calculados o coeficiente de correlação de *Spearman* (ρ) e os respectivos valores de significância estatística.

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Identificação e distribuição dos genomas de *Pseudomonas* spp.

Dentre os 1955 genomas de *Pseudomonas* spp. recuperados na plataforma *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), 1179 são provenientes de amostras de humanos, 108 de origem animal, 545 de solo e 123 de água. Ao todo, foram detectadas 139 espécies distintas, sendo que 258/1955 (13,2%) genomas foram identificados apenas a nível de gênero (*Pseudomonas* sp.) e as espécies com baixa abundância, menor que 13 contagens, foram agrupadas em “Others” (299/1955 - 15,3%) (Apêndice B).

A partir da análise de abundância relativa das espécies (Figura 13), foi observado uma distribuição heterogênea das espécies *Pseudomonas* spp. entre as diferentes origens. Dentre os genomas provenientes de *Pseudomonas* spp. de humanos, a espécie *P. aeruginosa* foi predominante (1122/1179 genomas – 95%), com baixa ocorrência de outras espécies. Quanto aos genomas provenientes de animais, a *P. aeruginosa* também foi a mais abundante (54/108 – 50%), no entanto, com maiores abundâncias de outras espécies quando comparado aos de humanos. Dentre os genomas provenientes de solos foi observada uma maior distribuição homogênea de espécies, com menor abundância relativa de *P. aeruginosa* (30/545 – 5%). No solo, a espécie mais predominante foi a *Pseudomonas chlororaphis* (51/545 – 9%), seguida da *P. putida* (23/545 – 4%) e *P. fluorescens* (19/545 – 3%). Na água, a *P. aeruginosa* foi a mais predominante (40/123 – 32%), com um padrão similar ao compartimento animal, em que teve uma distribuição maior de outras espécies comparadas as de humanos, como *P. fluorescens* (6/123 - 5%), *P. putida* (3/123 - 2%) e *P. protegens* (2/123 - 2%).

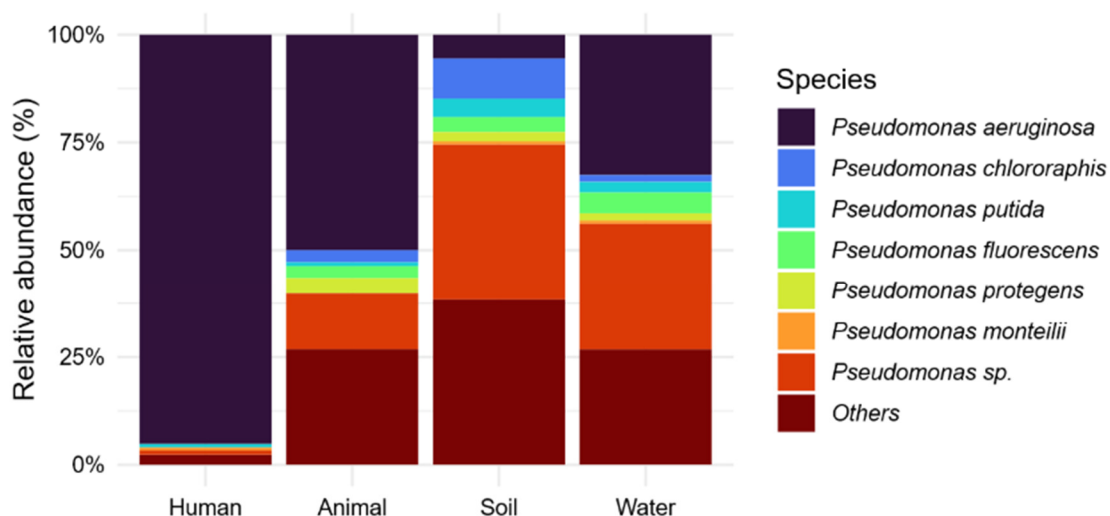


Figura 13. Abundância relativa das espécies de 1955 genomas de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens (homem, animal, solo e água). Fonte: Elaborado pela Autora.

3.5.2 Detecção dos genes de virulência

A análise da distribuição do número de genes de virulência por genoma de *Pseudomonas* spp. (Figura 14) revelou padrões distintos entre as origens. O histograma A, representado pelos genomas bacterianos (927/1179 - 79%) provenientes de humanos, possuem uma alta predominância de genes de virulência entre 220 e 240. Os genomas oriundos do compartimento animal (histograma B) têm uma tendência bimodal, uma vez que possuem dois

grupos predominantes, um que contém aproximadamente 15 a 40 genes de virulência (47/108 - 44%) e outro (43/108 - 40%) concentrado entre cerca de 220 a 240 genes. Já os histogramas C (solo) e D (água) demonstraram predomínio de amostras com valores abaixo dos hospedeiros animais e humanos, principalmente entre 20 e 40 genes, embora ainda existam subgrupos menores contendo mais de 200 genes. Além disso, nota-se que a água possui uma proporção maior de genomas (38/108 - 34%) com mais de 200 genes de virulência em relação ao solo (31/545 6%).

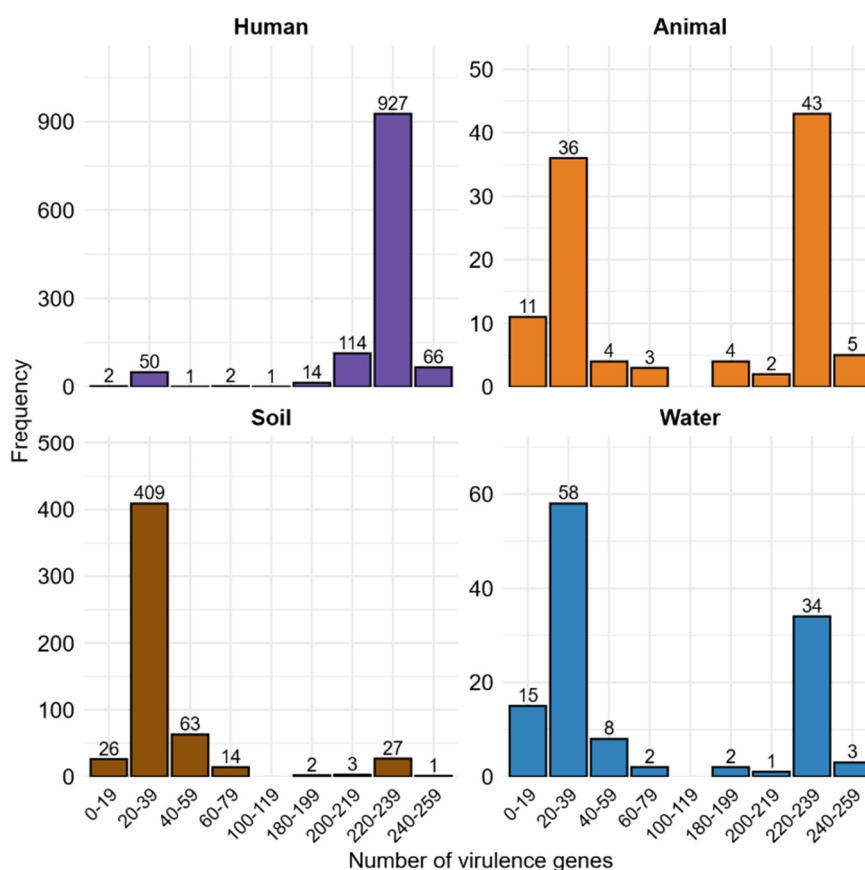


Figura 14. Histograma do número de genes de virulência por genomas encontrados de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens (A: humano, B: animal, C: solo e D: água). Fonte: Elaborado pela Autora.

No geral, foram identificados 249 genes de virulência distintos quando somados todos os ambientes analisados (Apendice B). As famílias gênicas apresentaram grande variação quanto ao número de representantes. As famílias mais diversas foram pil (24 genes), alg (20 genes), psc (19 genes), fli (18 genes) e flg (17 genes). Além disso, também se destacaram as famílias pvd (15 genes), xcp (12 genes), pch (10 genes) e phz (10 genes), associadas a mecanismos de motilidade, formação de biofilme, aquisição de ferro e secreção de fatores de virulência. Entre os genes individuais, os mais prevalentes foram *fliG* e *flgG*, ambos detectados em 1942 dos 1955 genomas analisados (99,4%). Além disso, destacaram-se os genes *fliM* (1941/1955 – 99,3%), *flgI* (1938/1955 – 99,2%), *fliP* (1935/1955 – 99,0%), *fleN* (1930/1955 – 98,8%), *fliL* (1926/1955 – 98,6%), *algU* (1907/1955 – 98%), *flgC* (1905/1955 – 97,5%), *algB* (1904/1955 – 97,4%), *algI* (1898/1955 – 97,1%), *algA* (1887/1955 – 96,6%) e *pilH* (1870/1955 – 95,7%) (Tabela 1).

Os genes que foram exclusivos de apenas uma origem foram raros, sendo observados apenas *hblC* e *hblD* em um genoma de origem animal, *iucA*, *iucB*, *iucC* e *iutA* em um genoma

humano e yopJ/yopP em um genoma de solo. Em contrapartida, os genes como *exoU*, *exoS*, *fleI*, *flag*, *flgL*, *fliC* e *fliD* apresentaram distribuição mais associada aos genomas humanos, embora não fossem exclusivos dessa origem (Figura 15).

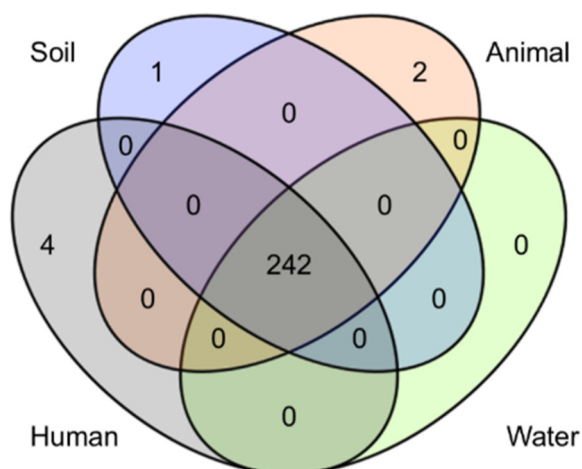


Figura 15. Diagrama de Venn do número de genes de virulência por genomas encontrados de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens. Fonte: Elaborado pela Autora.

O mapa de calor (*heatmap* – Figura 16) demonstrou um padrão semelhante de distribuição para a maioria dos genes de virulência avaliados entre as diferentes origens dos genomas. De modo geral, observou-se maior frequência dos genes nos genomas de origem humana, seguida pelos de origem animal, enquanto nas bactérias provenientes de solo e água apresentaram, em sua maioria, frequências mais baixas. Esse padrão foi observado para genes relacionados à motilidade flagelar, sistemas de secreção (T2SS, T3SS e T6SS), aquisição de ferro, adesão e motilidade por *twitching*, formação de biofilme, produção de fenazinas, ramnolipídios, proteases, lipase, *quorum sensing* e exotoxina A. Algumas exceções foram observadas para determinados genes, como *iucA*, *iucB*, *iucC*, *iutA*, *wzy*, *wzz*, *hblC*, *hblD* e *ompA*, que apresentaram baixa frequência em todas as origens avaliadas.

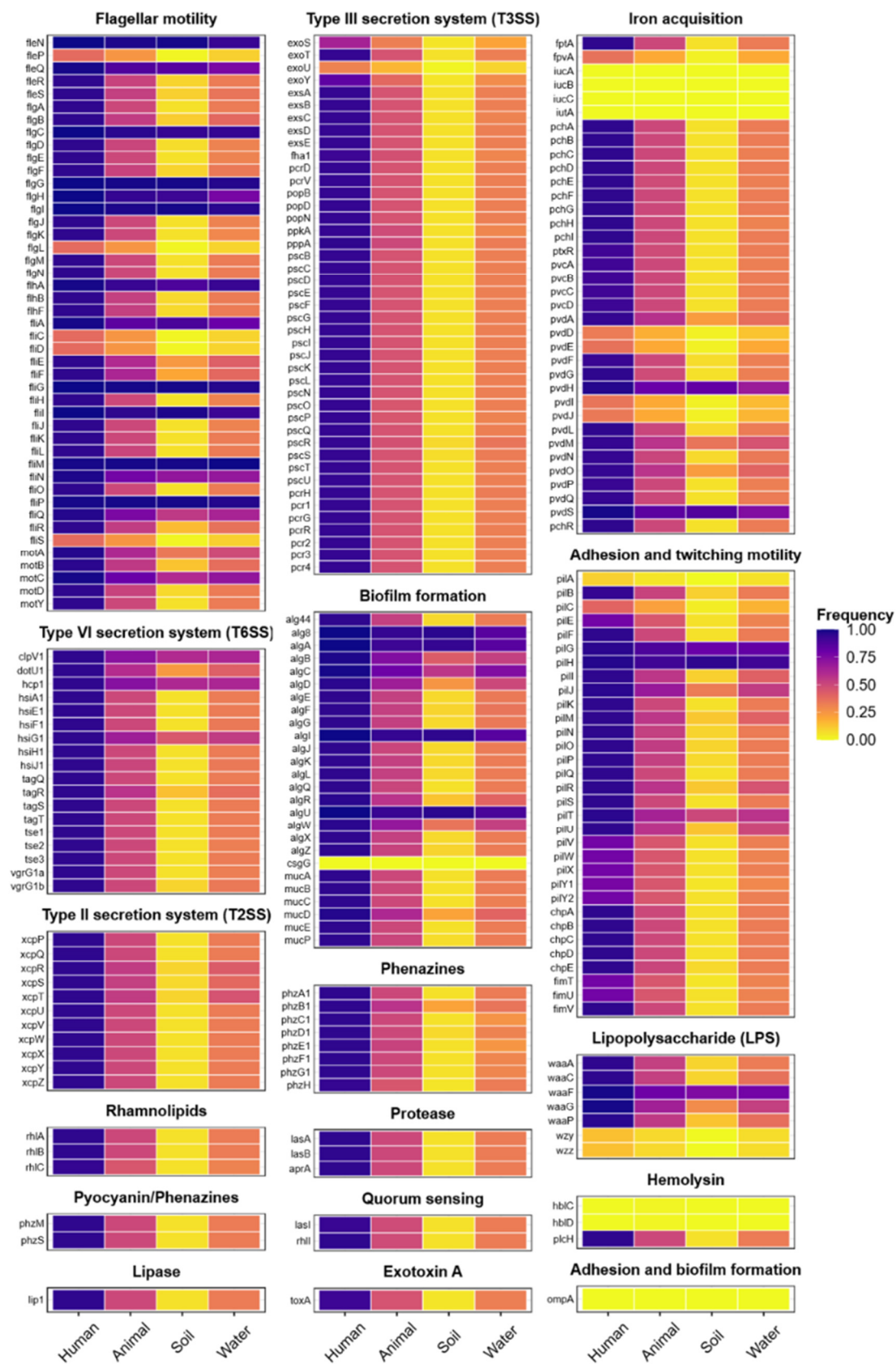


Figura 16. Frequência de genes de virulência detectados nos genomas de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens (humano, animal, solo e água). Fonte: Elaborado pela Autora.

3.5.3 Detecção dos genes de resistência antimicrobiana

Além da análise dos genomas quanto aos genes de virulência, também estudamos os genomas quanto a presença de GRAs. Entre todos os 1955 genomas de *Pseudomonas* spp. analisados, apenas um não apresentou nenhum GRA. A análise dos histogramas da distribuição do número dos GRAs por genoma de *Pseudomonas* spp. (Figura 17) indicou diferenças na distribuição dos GRAs entre os genomas provenientes dos diferentes ambientes.

O histograma A, relacionado aos genomas bacterianos provenientes de humanos, apresentou um pico predominante, em que a maioria (1012/1179 - 86%) obteve entre 15 e 25 GRAs. Os genomas provenientes de animais (histograma B) apresentaram uma distribuição bimodal, com dois grupos distintos de genomas, um com 5 a 15 GRAs e outro entre 15 e 19 GRAs. Entre os genomas oriundos de amostras ambientais (solo – histograma C e água – histograma D), houve o predomínio de genomas com baixo número de GRAs (5 a 10 genes para solos e água). No entanto, vale ressaltar que a água também apresentou um pico moderado de genomas com GRAs acima de 50, mas não tanto quanto o compartimento animal. Enquanto o solo apresentou baixíssimos valores de genomas com GRAs acima de 50. Esse padrão em cada compartimento foi similar ao de genes de virulência.

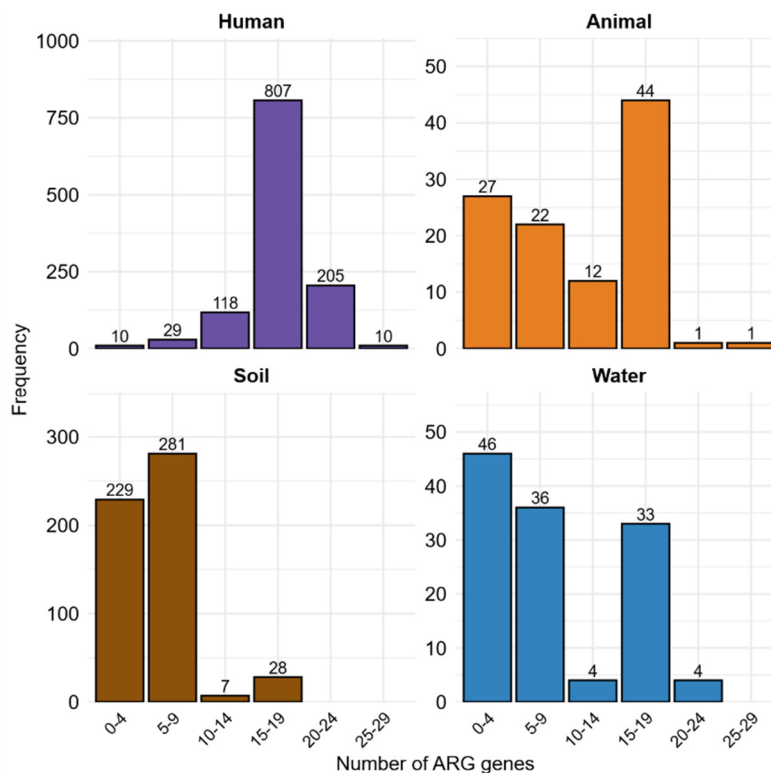


Figura 17. Histograma do número de genes de resistência aos antimicrobianos por genomas de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens (A: humano, B: animal, C: solo e D: água). Fonte: Elaborado pela Autora.

A maioria dos genes mais abundantes está associado à resistência intrínseca, como os relacionados à família RND (*Resistance-Nodulation-Division*), detectada em 99,9% dos genomas. Essa superfamília codifica sistemas de efluxo (Apendice B). Também foram frequentemente identificados genes relacionados a proteínas de membrana externa, ATPases de transporte e outros mecanismos de efluxo e redução da permeabilidade celular. A distribuição de GRAs associados às famílias de bombas de efluxo variou entre os ambientes. Em genomas de origem humana, observou-se alta frequência de famílias como MFS (*Major Facilitator*

Superfamily) (99,15%), SMR (*Small Multidrug Resistance*) (95,29%) e ABC (*ATP-Binding Cassette*) (91,18%), enquanto nos genomas provenientes do solo e água, as frequências foram menores, especialmente no solo, em que o SMR apresentou apenas 11,93% de ocorrência. Dentre os genes de resistência aos betalactâmicos, os genes *blaOXA*, *blaPDC* e *blaOXA50_like* são prevalentes em genomas humanos (94-95%), com frequência moderada em animais (48,6-49,5%) e água (32,5-33,3%) e menor frequência no solo (6,0-6,2%) (Apendice B).

Os genes relacionados à resistência adquirida mais abundantes, considerando todas as origens, foram o *vanW* (1303/1955 – 67%), *blaOXA* (1248/1955 – 64%), *aph(3')* (1240/1955 – 63,5%), *gyrA* (572/1955 – 29,3%) e família *sul* (478/1955 – 24,5%) (Tabela 4). Os genomas de *Pseudomonas* spp. de origem humana apresentaram as maiores frequências de genes de resistência, seguidos pelos genomas de origem animal, água e solo.

Tabela 4. Frequência dos genes de resistência adquirida mais abundantes em *Pseudomonas* spp. de diferentes origens (humana, animal, solo e água).

Gene de resistência	Humano (%) n= 1179	Animal (%) n=108	Solo (%) n= 545	Água (%) n=123	Confere resistência antimicrobiana
<i>aph(3')</i>	95% (1118)	49,5% (n=53)	5,1% (n=28)	33,3% (n=41)	Aminoglicosídeos
<i>ant(3'')</i>	16% (n=186)	5,6% (n=6)	0,4% (n=2)	3,25% (n=4)	
<i>aph(6)</i>	9% (n=108)	3,7% (n=4)	0,6% (n=3)	4% (n=5)	
<i>aph(3'')</i>	8,8% (n=104)	4,7% (n=5)	0,91% (n=5)	2,4% (n=3)	
<i>aac(6')</i>	8,4% (n=99)	3,8% (n=4)	0,4% (n=2)	2,4% (n=3)	
16S rRNA methyltransferase	5% (n=59)	0,9% (n=1)	*	*	
<i>aac(3)</i>	2,6% (n=31)	1,9% (n=2)	0,4% (n=2)	0,8% (n=1)	
<i>blaOXA</i>	95% (n= 1120)	49,5% (n=53)	6,2% (n=34)	33,3% (n=41)	Betalactâmicos
<i>blaOXA10_like</i>	8,8% (n=104)	2,8% (n=3)	*	*	
<i>blaIMP</i>	7,8% (n=93)	0,9% (n=1)	*	0,8% (n=1)	
<i>blaGES</i>	6,4% (n=75)	*	*	*	
<i>blaVIM</i>	5,7% (n=67)	2,8% (n=3)	*	2,4% (n=3)	
<i>blaKPC</i>	5% (n=63)	0,9% (n=1)	*	1,6% (n=2)	
<i>blaOXA2_like</i>	5,4% (n=64%)	*	*	0,8% (n=1)	
<i>blaNDM</i>	3,7% (n=44)	0,9% (n=1)	*	3,25% (n=4)	
<i>blaOXA1_like</i>	2,6% (n=31)	*	*	*	
<i>fosB</i>	96% (n=1127)	67% (n=72)	54,3% (n=296)	54,5% (n=67)	Fosfomicina
<i>qnr</i>	8% (n=94)	6,5% (n=7)	0,2% (n=1)	5% (n=6)	Fluoroquinolona
<i>vanW</i>	94% (n=1110)	55% (n=59)	16% (n=87)	38,2% (n=47)	Glicopeptídeos
<i>van_ligase</i>	0,3% (n=4)	20,6% (n=22)	38,3% (n=209)	23,6% (n=29)	
<i>vanH</i>	0,08% (n=1)	3,8% (n=4)	7% (n=36)	3,3% (n=4)	Macrolídeos
macrolide phosphotransferase (MPH)	4,7% (n=55)	1,9% (n=2)	*	*	
msr-type ABC-F	4% (n=48)	1,9% (n=2)	*	2,4% (n=3)	
<i>sul</i>	38% (n=449)	11,2% (n=12)	1% (6)	9% (n=11)	Sulfonamidas

*O asterisco representa que o gene não foi detectado em nenhum dos genomas provenientes daquele ambiente.

Dentre os genes de resistência adquirida aos aminoglicosídeos, todos foram detectados em genomas provenientes das quatro origens. O gene *aph(3')* foi mais abundante (95%, 49,5%, 5,1% e 33,33, respectivamente). Em relação aos betalactâmicos, o gene *blaOXA10_like* foi

detectado somente em genomas de origem humana e animal, e é comumente associado a integrons de classe 1. Os genes relacionados a resistência à carbapenemases, *bla_{IMP}* (0,8-7,8%) *bla_{VIM}* (2,4- 5,7%) e *bla_{NDM}* (0,9-3,7%) foram detectados em genomas de origem humana, animais e de água, não sendo detectado nos genomas provenientes de solos. O *bla_{OXA10-like}* foi o segundo mais abundante nas origens humanas e animais (8,8% e 2,8%), respectivamente, mas não foi detectado na água e no solo. O gene *bla_{PRC}* foi detectado somente em genomas de amostras animais, não sendo detectados em cepas provenientes de humanos, solo e água.

Dentre os genes relacionados a resistência adquirida à classe dos glicopeptídeos, os genes *vanW*, *vanA_{ligase}* e *vanA* foram detectados em genomas de *Pseudomonas* spp. de origem humana, animal, solo e água. O gene *vanW* foi o mais abundante nos genomas de *Pseudomonas* spp. origens humana, animal e água (94%, 55% e 38,2%, respectivamente), sendo o segundo mais abundante encontrado no solo (16%). O *vanA_{ligase}* foi o segundo mais abundante nos genomas provenientes de humano, animal e água (0,3%, 20,6%, 23,6%, respectivamente), exceto no solo, que foi o primeiro mais abundante (38,3%). Os genes *vanT* e *vanX* foram detectados somente nos genomas provenientes de animais, solo e água, não sendo detectados em genomas de origem humana. O gene *vanY* não foi detectado em genomas de origem animal, sendo observado em outras origens. Além desses, os genes *sul*, que confere resistência a sulfonamida, *fosB*, que confere resistência a fosfomicina, e *qnr*, que confere resistência a fluoroquinolona, foram detectados em genomas das quatro origens.

Em relação aos genes que conferem resistência a antimicrobianos da classe de polimixinas, que inclui a colistina, foram detectados os genes *pmr* e o *mcr5* (Apendice B). O gene *pmr*, associado à resistência intrínseca, foi encontrado em todas origens com alta incidência (95,4% - humano; 80,4% - animal; 62,6% - água e 60,4% - solo). O gene *mcr5*, relacionado à resistência adquirida, foi detectado em apenas em um genoma de origem humana (0,08%).

Observou-se a ocorrência de genes de resistência aos antimicrobianos que foram exclusivos em diferentes origens (Tabela 5). Os genomas de *Pseudomonas* spp. de origem humana apresentar a maior diversidade desses genes (18), seguida do solo (2) e depois água (1). Os genomas de *Pseudomonas* spp. de origem animal não apresentaram GRAs exclusivos.

Nos genomas provenientes de humanos, observou-se a presença de genes associados à resistência intrínseca e adquirida. Entre os genes de resistência intrínseca destacam-se *ampR* e a betalactamase cromossômica AmpC, que compõem o sistema basal de resistência da espécie. Por outro lado, foi identificada uma ampla diversidade de genes associados à resistência adquirida, como betalactamases de espectro estendido (*CTX-M*, *TEM*, *PER* e *GES*), carbapenemases e metalobetalactamases (*SIM* e *FIM*), também foram detectadas betalactamases do tipo OXA (*OXA-1-like*, *OXA-5-like*, *OXA-9-like* e *OXA-46-like*), que podem estar associadas à hidrólise de diferentes classes de betalactâmicos e frequentemente apresentam disseminação mediada por EGMs. Além disso, foram detectados genes relacionados à resistência aos aminoglicosídeos (AAC) e à colistina (*mcr*). Nos genomas provenientes do solo foram detectados dois genes de resistência adquirida exclusivos, mas com baixa incidência (*bla_{PFM}* – 0,18% e *tet* – 2,9%). Nos genomas provenientes da água apresentou apenas o *bla_{SHV}* (0,8%) como gene adquirido exclusivo.

Tabela 5. Genes de resistência aos antimicrobianos exclusivos dos genomas de *Pseudomonas* spp. em cada ambiente (humano, animal, solo e água).

Origem	Genes de resistência aos antimicrobianos exclusivos em cada ambiente
Humano (1179)	AAC, FIM, ampR, PER, GES, mcr, SIM, CMY, LUT, PAC, TEM, OXA-1LIKE, OXA-5LIKE, OXA-46LIKE, OXA-9LIKE, CTX-M, LCR, CAE
Animal (108)	*
Solo (545)	<i>bla</i> _{PFM} e tet
Água (123)	<i>bla</i> _{SHV}

3.5.4 Correlação entre de genes de virulência e de resistência antimicrobiana

A análise de correlação entre o número de fatores de virulência e o número de genes de resistência a antimicrobianos (GRAs) nos genomas de *Pseudomonas* spp. revelou uma associação positiva significativa (ρ de *Spearman* = 0,67; $p = 3,45 \times 10^{-254}$) (Figura 18). Dessa forma, os genomas com maior repertório de FV apresentaram, em geral, maior quantidade de GRAs. Os dados mostraram a presença de dois agrupamentos principais: um composto por genomas com baixo número de FV e de ARGs, e outro caracterizado por elevados números de ambos os atributos. As amostras de origem humana foram mais frequentes no agrupamento com maiores valores de virulência e resistência. No entanto, genomas de todas as outras origens (animal, solo e água) também contribuíram para ambos os agrupamentos, embora com menor incidência no agrupamento de altos valores.

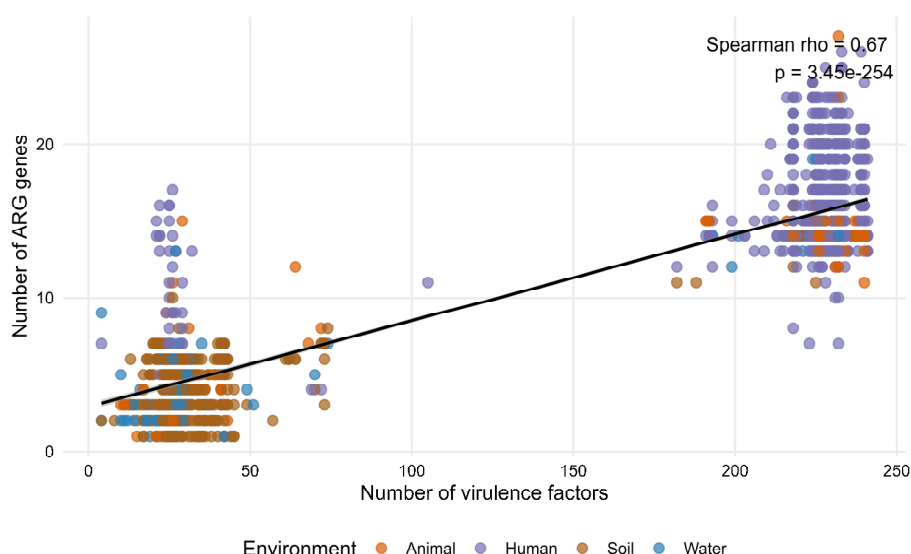


Figura 18. Correlação entre o número de genes de virulência e genes de resistência a antimicrobianos em genomas de *Pseudomonas* spp. de diferentes origens. O eixo X representa o número de fatores de virulência presentes por genoma, e o eixo Y representa o número de genes de resistência a antimicrobianos por genoma. Cada ponto corresponde a um genoma e as cores indicam a origem ambiental dos genomas (animal, humano, solo e água). Fonte: Elaborado pela Autora.

3.6 DISCUSSÃO

Dos 1955 genomas de *Pseudomonas* spp. recuperados do NCBI, a maior parte foi proveniente de amostras humanas (1179 – 60,3%), seguida por amostras de solo (545 – 27,9%), água (123 – 6,3%) e animais (108 – 5,5%). Essa distribuição evidencia um forte predomínio de genomas de *Pseudomonas* spp. de origem clínica nos bancos públicos, refletindo o histórico direcionamento dos esforços de pesquisa para espécies de relevância médica, especialmente *P. aeruginosa*, devido à sua importância como patógeno oportunista associado a infecções hospitalares e elevados índices de resistência antimicrobiana. Sob a perspectiva *One Health*, essa diferença na disponibilidade de dados revela uma lacuna importante no conhecimento sobre a circulação de desde gênero fora do ambiente clínico. Dessa forma, a menor representatividade de genomas provenientes desses ambientes não necessariamente indica menor importância epidemiológica, mas possivelmente um menor esforço amostral e de sequenciamento quando comparado ao setor de saúde humana.

Em relação a distribuição das espécies, foi observado que amostras de humanos e animais apresentaram maior predominância de genomas de *P. aeruginosa*, isso deve ao fato de que essa espécie é um patógeno oportunista com elevada capacidade de adaptação para colonizar e persistir nesses hospedeiros. Além disso, essa espécie é amplamente reconhecida por sua capacidade de adquirir e acumular diversos GRAs, o que pode favorecer sua prevalência em detrimento de outras espécies menos adaptadas (BOTELHO; GROSSO; PEIXE, 2019). O estudo de Crone et al. (2019) demonstrou que apesar da *P. aeruginosa* ser descrita como ubíqua em ambientes naturais, sua prevalência é maior em humanos e animais e principalmente em ambientes com maior contato humano. Por um outro lado, as amostras ambientais apresentaram maior diversidade de espécies de *Pseudomonas* spp. Este ambiente, caracterizado por sua complexidade ecológica e intensa competição microbiana, favoreceu uma maior diversidade de outras espécies desse gênero (*P. choleraefins*, *P. fluorescens*, *P. putida*) que estão mais adaptadas aos múltiplos nichos e funções ecológicas do solo.

Em relação aos genes de virulência, foram observados genomas com muitos desses genes (acima de 200), o que pode refletir maior capacidade de adesão, invasão, formação de biofilme, evasão imune e persistência ambiental. A distribuição bimodal observada em quase todos os ambientes reforça a possibilidade de existência de diferentes perfis ecológicos e evolutivos dentro das populações bacterianas analisadas. A predominância de genes pertencentes aos sistemas flagelares (*fli*, *flg* e *fle*) demonstra que a motilidade constitui uma característica altamente conservada entre os genomas de *Pseudomonas* spp. analisados. Da mesma forma, a elevada frequência dos genes da família *alg* (gene que codifica a produção do alginato – expolissacarídeo que compõe a matriz extracelular do biofilme) sugere que a capacidade de formação de biofilmes e adaptação a diferentes condições ambientais representa uma característica amplamente distribuída dentro do gênero. Além disso, a alta ocorrência do gene *pilH* demonstra a importância dos pili do tipo IV nos processos de adesão, colonização e motilidade por *twitching* (contração) (OLADOSU; PARK; SAUER, 2024; MUHAMMADI; AHMED, 2007; MATTICK, 2002).

Diversos genes de virulência amplamente distribuídos em *P. aeruginosa*, como *exoS*, *toxA*, *lasB* e *plcN*, contribuem para sua elevada capacidade patogênica. O gene *exoS*, associado ao sistema de secreção do tipo III, está envolvido nos processos de colonização, invasão e disseminação da infecção, enquanto *toxA* codifica a exotoxina A, considerada um dos principais fatores de virulência da espécie por inibir a síntese proteica das células hospedeiras. O gene *lasB* codifica a elastase, responsável pela degradação de componentes teciduais e pela evasão da resposta imune, e *plcN* participa da produção de fosfolipases que promovem danos às membranas celulares. Além disso, o gene *nanI*, embora menos frequente, pode favorecer a adesão bacteriana às superfícies mucosas. Em conjunto, a elevada prevalência desses genes

reforça o potencial patogênico e a capacidade adaptativa de *P. aeruginosa* em diferentes ambientes e hospedeiros (MORADALI; GHODS; REHM, 2017; GELLATLY; HANCOCK, 2013).

As espécies de *Pseudomonas* spp. apresentam diversos mecanismos de resistência intrínseca que contribuem para sua sobrevivência em ambientes hostis e a colonização de hospedeiros. Os principais mecanismos intrínsecos envolvidos estão relacionados com a baixa permeabilidade da membrana externa, bombas de efluxo, a capacidade de formação de biofilmes, a resistência adaptativa induzida por condições ambientais específicas e a produção de betalactamases cromossômicas, como a enzima AmpC. Em *P. aeruginosa*, destacam-se as bombas de efluxo MexAB-OprM e MexXY-OprM, pertencentes à superfamília *Resistance Nodulation Cell Division* (RND), amplamente distribuída e altamente conservada entre espécies do gênero que, por consequência, contribui para que essas bactérias se protejam contra os antimicrobianos (SINGH; BRANCA; KUMAR, 2026).

O sistema RND foi detectado em 99,9% (1952/1955) dos genomas avaliados, isso confirma a informação sobre a sua conservação e importância na resistência intrínseca (LI; PLÉSIAT; NIKAIDO, 2015). Esse sistema é essencial para a sobrevivência bacteriana, especialmente por atuar na extrusão de múltiplos compostos tóxicos, como os antimicrobianos, detergentes e metais pesados. De acordo com ELE et al. (2025), uma cepa clínica de *P. aeruginosa* XM8, contendo vários genes responsáveis por codificar bombas de efluxo do tipo RND, apresentou resistência a quase todos os antimicrobianos comerciais, exceto a colistina. A resistência foi atribuída à inativação do gene *oprD* e à superexpressão de diversos genes de bomba de efluxo, como *mexAB-oprM*, *mexCD-oprJ*, *oprN-mexFE* e *mexXY*. Inclusive, *P. aeruginosa* pode desenvolver resistência aos carbapenêmicos devido à combinação desses mecanismos (inativação das proteínas da membrana externa do *oprD*, superexpressão do MexAB-OprM e superprodução da betalactamase AmpC) (TENOVER; NICOLAU; GILL, 2022).

Outras famílias de bombas de efluxo como MFS (*Major Facilitator Superfamily*), SMR (*Small Multidrug Resistance*), ABC (*ATP-Binding Cassette*), juntamente com genes associados à resistência à fosfomicina, tiveram uma ocorrência mais elevada em genomas humanos. Em termos funcionais, os sistemas MFS e SMR atuam na extrusão de uma ampla variedade de compostos tóxicos através de gradientes eletroquímicos, enquanto os transportadores ABC utilizam energia derivada da hidrólise de ATP para extrusão de substratos (LI; PLÉSIAT; NIKAIDO, 2015).

Entre os genes associados à resistência intrínseca, também se destacaram os genes *bla_{OXA50}* e *bla_{PDC}*, detectados com elevada frequência no genoma de *Pseudomonas* spp. de todas as origens analisadas. Esses genes estão geralmente localizados no cromossomo bacteriano e são característicos de espécies de *Pseudomonas* spp. especialmente *P. aeruginosa*. O gene *bla_{OXA50}*, por exemplo, é considerado uma betalactamase intrínseca dessa espécie, enquanto *bla_{PDC}* codifica uma cefalosporinase do tipo AmpC. A elevada frequência desses genes corrobora estudos anteriores que demonstram que a resistência aos betalactâmicos em *Pseudomonas* spp. está associada a mecanismos intrínsecos, além da aquisição de determinantes genéticos exógenos (LISTER; WOLTER; HANSON, 2009; GIRLICH; NAAS; NORDMANN, 2004).

Além disso, no solo, humanos, animais e água foram detectados 329/545 (60%), 1125/1179 (95%) e 80% (86/108) e 62% (77/123) genomas com o gene cromossomal *pmr*, respectivamente. O gene *pmr* faz parte da família de fosfoetanolamina transferase, que catalisa a adição de 4-amin-4-desoxi-L-arabinose (L-Ara4N) e fosfoetanolamina ao lipídio A, o que impede a ligação da colistina à membrana celular bacteriana. O estudo de JOO et al. (2023), em amostras marinhas, observou que tanto o gene *pmr_E* quanto o *pmr_F* estavam envolvidos nessa modificação do lipídio que, por consequência, diminuía a eficácia das polimixinas testadas. O

sistema regulador de dois componentes PmrAB, de acordo com diversos estudos, têm uma forte relação com a indução de resistência à colistina e outros antimicrobianos em espécies Gram-negativas, como *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella enterica* sorovar *Typhimurium*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *Escherichia coli* (JAIMES et al., 2025; OUYANG et al., 2024; BOLARD et al., 2019; CHENG; CHEN; PENG, 2010; LEE; HSU; TURK; GROISMAN, 2004).

Além da resistência intrínseca, espécies de *Pseudomonas* spp. podem adquirir genes de resistência por meio de plasmídeos, integrons, transposons e outros EGMs, frequentemente disseminados por THG. Dentre os genes de resistência adquirida, os genes *vanW* foram os mais abundantes. Os genes *vanW* são encontrados tipicamente em bactérias Gram-positivas, principalmente em *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. Esse gene não é comum em *Pseudomonas* spp., uma vez que são bactérias Gram-negativas e a vancomicina não consegue penetrar sua membrana externa, conferindo-lhes resistência intrínseca a este antimicrobiano. A detecção de *vanW* em *Pseudomonas* spp. sugere que essas bactérias podem atuar como reservatórios e fonte de circulação dos genes *van* para outras bactérias por meio da THG (YUSHCHUK; BINDA; FEDORENKO; MARINELLI, 2022).

Os aminoglicosídeos são uma classe de antimicrobianos (amicacina, gentamicina, tobramicina, entre outros) que inibem a síntese de proteínas e/ou atuam na alteração da integridade das membranas bacterianas. São comumente utilizados para tratar infecções graves por *P. aeruginosa* em pacientes com fibrose cística e infecções de difíceis de tratamento, sendo considerados antimicrobianos de última instância em hospitais. Os principais mecanismos de resistência a esses antimicrobianos incluem enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (EMAs), que inativam os aminoglicosídeos (AGs), ao catalisar alterações nos grupos OH ou NH₂ das porções de açúcar 2-desoxiestreptamina por acetilação (AAC [acetiltransferase]), adenilação (ANT [nucleotidiltransferases]) e fosforilação (APH [fosfotransferases]). Dentro dessas famílias existem diferentes genes que podem inativar diferentes antimicrobianos. Esses genes estão associados aos EGMs, como integrons e transposons, o que aumenta a chance de disseminação da RAM (THACHARODI; LAMONT, 2022; JALIL et al., 2025). Dentro dessas famílias, existem diferentes tipos de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, como o AAC (6')-Ia, capa de inativar a amicacina, enquanto a AAC(6')-Ib' está associada à inativação da gentamicina e a tobramicina (ATASSE et al., 2023). Neste estudo, o gene mais abundante relacionado a resistência à aminoglicosídeos, foi o *aph(3')*, seguido do *ant(3'')* e *aph(6)*. Foi observado que 94,8% (1118/1179) dos genomas de *Pseudomonas* spp. provenientes de humanas apresentavam o *aph(3')*. No estudo de El-Far et al. (2023) com *P. aeruginosa* de amostras clínicas humana, o gene mais frequente foi o *aac(6')-Ib* em 17/18 (94,4%), seguido do *ant(3'')-I* (6/18, 33,3%), depois *aph(3')-VI* (3/18, 16,7%). Em outro estudo, 71,2% dos genomas de *P. aeruginosa* eram positivos para *acc(6')-Ib*; e em outro, verificou-se que os genes mais frequentes foram *aac(6')-II* (36%), *ant(2'')-I* (28%), *aph(3')-VI* (11%) e *aac(6')-I* (7%) (VAZIRI; PEERAYEH; NEJAD; FARHADIAN, 2011).

A resistência a betalactâmicos, uma das classes mais importantes de antimicrobianos, é um desafio crescente, e a detecção de genes que conferem essa resistência em *Pseudomonas* spp. de diversas origens é de grande relevância. As enzimas ESBLs (beta-lactamases de espectro estendido) codificadas pelos genes *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{PER}* e *bla_{VEB}* tiveram menos frequência que as metalobetalactamases no nosso estudo, corroborado outros estudos que verificaram frequências semelhantes. A detecção desses genes em diferentes ambientes indica sua disseminação por meio de elementos genéticos móveis em espécies intraespecíficas e interespecíficas, ainda que em baixa frequência. Embora as ESBLs confirmem resistência a cefalosporinas de espectro expandido, sua presença é um sinal de alerta, pois muitas vezes precede ou coexiste com outros mecanismos de resistência como as carbapenemases (PATERSON; BONOMO, 2005).

A resistência aos carbapenêmicos, antimicrobiano de última geração e frequentemente

o último recurso para o tratamento causado por bactérias gram-negativas multiresistentes, é particularmente preocupante. Em *Pseudomonas* spp., os principais mecanismos de resistência aos carbapenêmicos incluem a superexpressão da bomba de efluxo, a elevada produção da beta-lactamase AmpC e, mais raramente, a presença de carbapenemases (BARTH et al., 2025). Neste trabalho, foram detectados genes que codificam carbapenemases de diferentes classes, reforçando a complexidade e a gravidade da resistência observada. Os genes que codificam as metalobetalactamases (MBLs) *bla_{IMP}* e *bla_{VIM}* (classe B); e *bla_{NDM}* (de Nova Déli), foram detectadas em genomas de *Pseudomonas* de origem humana, animal e água. Embora a incidência observada tenha sido baixa, semelhante a estudos como de Sousa et al. (2025) e Nordmann; Naas; Poirel (2011) a detecção desses genes é de extrema relevância. As MBLs são capazes de hidrolizar todos os betalactâmicos, exceto o aztreonam, comprometendo severamente as opções terapêuticas. Muitas bactérias que produzem a NDM-1 continuam suscetíveis à tigeciclina, colistina e, em menor grau, à fosfomicina (MOELLERING; JR, 2010; WALSH; WEEKS; LIVERMORE; TOLEMAN, 2011). A preocupação com essas MBLs é amplificada pela sua forte associação com elementos genéticos móveis (EGMs), como plasmídeos, transposons e integrons, o que facilita sua rápida disseminação (QUEENAN; BUSH, 2007). O gene *bla_{NDM-1}*, por exemplo, exemplifica essa mobilidade, tendo se disseminado rapidamente da Índia e países vizinhos para diversas partes do mundo. É importante notar que, embora muitas bactérias produtoras de NDM-1 possam manter suscetibilidade à tigeciclina, colistina e, em menor grau, à fosfomicina, a presença da MBL já limita drasticamente as opções. Uma informação importante é que as MBLs requerem íons de zinco em seu sítio ativo para hidrolisar o anel betalactâmico. Essa dependência de metais pode favorecer a co-seleção de genes de resistência antimicrobiana (GRAs) e metais pesados. Em ambientes com elevado índice de metais, a pressão seletiva pode favorecer bactérias que possuem MBLs, contribuindo para a manutenção e disseminação do fenótipo de resistência (TAMILSELVI; MUGESH, 2008; GILLIEATT; COLEMAN, 2024).

O gene *bla_{KPC}*, que codifica a carbapenemase KPC e representa outra carbapenemase de grande relevância, foi detectado em genomas de *Pseudomonas* spp. originados de amostras humanas, animais e de água. Apesar de ter sido encontrado em baixa frequência comparado a outros genes, vale salientar que essa carbapenemase foi inicialmente descrita em *Klebsiella pneumoniae*, não sendo típica, portanto, em *Pseudomonas* spp. (YIGIT et al., 2001). No entanto, esse gene está frequentemente associado a plasmídeos, o que facilita sua disseminação de forma interespecífica e intraespecífica. O primeiro relato de *P. aeruginosa* produtoras da enzima KPC, fora da família Enterobacteriaceae, ocorreu em 2007 (VILLEGAS et al., 2007). Esse gene confere resistência a carbapenêmicos de última geração, como o meropenem, imipinem e doripinem. Em um estudo francês, foi observado que em todas as cepas de *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* com presença de *bla_{KPC2}* estavam associados com um novo transposon denominado Tn4401, sugerindo uma possível contribuição desse transposon na mobilização desse gene entre espécies diferentes. Além disso, verificaram por meio de experimento que não era possível transferir plasmídeos da *K. pneumoniae* para *P. aeruginosa*, o que demonstrava que essa transferência não era tão simples, evidenciando a importância do Tn4401 nessa troca genética (NAAS et al., 2008). As cepas de *K. pneumoniae* produtoras de carbapenemases com múltiplos genes como *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* e *bla_{OXA-48}* apresentam resistência ampliada e frequentemente evoluem para multiresistência ou quase pan-resistência, com opções terapêuticas limitadas a polimixinas e tigeciclina. O acúmulo desses genes está associado a alta mortalidade em humanos (>37%) (YU; LI; XI; ZHU, 2025).

A associação positiva significativa observada entre o número de fatores de virulência e o número de genes de resistência a antimicrobianos (GRAs) nos genomas de *Pseudomonas* spp., tem sido descrito e discutido. Essa coexistência não é aleatória, uma vez que GRAs e fatores de virulência frequentemente coexistem nos mesmos genomas bacterianos, os quais podem ser

favorecidos por processos de co-seleção e transferência horizontal de genes (THG). Estudos recentes (HALL et al., 2021; MEHTA et al., 2023) têm demonstrado que genes distintos do genoma acessório bacteriano apresentam padrões de coocorrência não aleatórios, o que pode ser proveniente de processos como coevolução, THG e resposta a pressões seletivas semelhantes. O estudo de Hao et al. (2026) detectou a existência de um clone de *Escherichia coli* ST602 que possui tanto um gene *blaNDM-5* associado a um plasmídeo transferível (IncHI2/IncHI2A) quanto outro de virulência conservado em um ecossistema integrado de criação de patos. Na espécie *Pseudomonas aeruginosa*, a coexistência desses determinantes contribui para sua adaptação a diferentes nichos ecológicos e para o sucesso como importante patógeno oportunista (CHOUDHURY; ANDAM, 2026). De acordo com Pan et al. (2020), após analisarem mais de 9.070 genomas completos de diferentes filos bacterianos, observaram que os genes de resistência e virulência nas bactérias analisadas estão mais frequentemente localizados com uma menor distância intergênica entre elementos genéticos móveis (EGMs), o que aumenta a probabilidade de serem transferidos para outras bactérias, principalmente entre espécies patogênicas originadas de humanos e animais.

A análise da distribuição dos genes de resistência antimicrobiana (GRAs) e de virulência nos diferentes ambientes revelou padrões distintos. Os genomas de *Pseudomonas* spp. de origem humana e animal apresentaram maior abundância e diversidade de genes de resistência e virulência, enquanto os ambientes naturais, representados por solo e água, exibiram quantidades relativamente menores. Esse padrão pode estar relacionado à intensa pressão seletiva exercida pelo uso de antimicrobianos em ambientes clínicos e na produção animal. Na pecuária, além da utilização desses fármacos a fim de tratar infecções, os antimicrobianos também são empregados de forma profilática (preventiva) e, em alguns sistemas produtivos, como promotores de crescimento, o que favorece a seleção e disseminação de microrganismos resistentes. Por consequência, os resíduos de antimicrobianos e bactérias resistentes podem alcançar os ambientes naturais, influenciando a composição de seus resistomas. (AHMED; ABOUZEED; DAW, 2025).

No solo, notou-se uma maior abundância de genes resistentes aos glicopeptídeos, seguido dos betalactâmicos, macrolídeos e aminoglicosídeos em genomas de *Pseudomonas* spp.. Esse resultado foi semelhante a um estudo que relatou que, em amostras de solo, os genes de resistência mais abundantes foram das classes dos glicopeptídeos, betalactâmicos e aminoglicosídeos. Já os genes que conferem resistência aos betalactâmicos foram os mais abundantes em todas as amostras de solos adubadas com esterco. Além disso, observaram por meio de análises genômicas e estatísticas que depois do uso de esterco houve um enriquecimento de 98, 91 e 8 subtipos de GRAs em solos ácidos, quase neutros e alcalinos, respectivamente. Observou-se que a adubação a longo prazo aumentou a diversidade e abundância de GRAs nas amostras de solos (ZHANG et al., 2021).

Embora o solo tenha apresentado a menor abundância geral de GRAs em relação aos demais ambientes, notou-se uma maior abundância de genes resistentes aos glicopeptídeos, seguido dos betalactâmicos, macrolídeos e aminoglicosídeos em genomas de *Pseudomonas* spp.. Esse resultado foi semelhante a um estudo que relatou que, em amostras de solo, os genes de resistência mais abundantes foram das classes dos glicopeptídeos, betalactâmicos e aminoglicosídeos. Já os genes que conferem resistência aos betalactâmicos foram os mais abundantes em todas as amostras de solos adubadas com esterco. Além disso, observaram por meio de análises genômicas e estatísticas que depois do uso de esterco houve um enriquecimento de 98, 91 e 8 subtipos de GRAs em solos ácidos, quase neutros e alcalinos, respectivamente. Observou-se que a adubação a longo prazo aumentou a diversidade e abundância de GRAs nas amostras de solos (ZHANG et al., 2021). Foram identificados genes associados à resistência à tetraciclina, como *tet*, detectados exclusivamente nesse compartimento. Esse resultado pode estar relacionado ao amplo uso de tetraciclinas na

produção animal, uma vez que resíduos desses antimicrobianos e microrganismos portadores de genes de resistência podem ser introduzidos no solo por meio da aplicação de esterco e outros resíduos agropecuários. Observou-se também uma elevada abundância de genes associados à resistência à vancomicina, sugerindo que esse ambiente pode atuar como reservatório de determinantes específicos de resistência, mesmo apresentando menor diversidade global de genes relacionados à resistência antimicrobiana (ZALEWSCA et al., 2021).

Nas amostras de água, os genes mais abundantes foram aqueles associados à resistência à fosfomicina, glicopeptídeos, aminoglicosídeos e betalactâmicos. Além disso, ainda que em baixa incidência, foram identificados genes de importância clínica, como *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}*, *bla_{VIM}* e *bla_{IMP}*, relacionados à resistência adquirida aos carbapenêmicos. Esses resultados sugerem que águas superficiais, esgotos e outras águas residuárias podem atuar como importantes reservatórios de genes de resistência antimicrobiana, além de favorecerem a persistência e disseminação de GRAs entre bactérias ambientais e patogênicas. A água constitui um elo entre diferentes ambientes, em que recebe microrganismos provenientes de atividades humanas, animais e agrícolas, o que pode contribuir para a circulação e THG. Sob a perspectiva de Saúde Única, a detecção desses determinantes de resistência reforça a importância do monitoramento desses ecossistemas, uma vez que podem desempenhar papel relevante na manutenção e propagação da RAM. (MANAIA et al., 2018; BAQUERO; MARTÍNEZ; CANTÓN, 2008).

A ampla distribuição de genes de resistência antimicrobiana (GRAs) e virulência em *Pseudomonas* spp. detectada em todos os ambientes analisados (humano, animal, solo e água), conforme detalhado neste estudo, evidencia a complexidade da problemática da resistência antimicrobiana e a necessidade de considerar o contexto das medidas regulatórias implementadas. A preocupação com o uso de antimicrobianos na produção animal, por exemplo, levou à implementação de medidas regulatórias em diversos países ao longo das últimas décadas. Na União Europeia, a proibição teve início em 1997 com a retirada da avoparcina, seguida pelo banimento de outros promotores de crescimento em 1999 e pela proibição completa do uso de antimicrobianos para promoção de crescimento em 2006. Mais recentemente, em 2023, a legislação europeia reforçou essas restrições ao limitar o uso de 18 substâncias consideradas críticas para a medicina humana. Nos Estados Unidos, medidas semelhantes foram implementadas em 2017, exigindo supervisão veterinária para o uso de antimicrobianos de importância médica. Na China, o controle foi ampliado a partir de 2019, com a proibição de oito antimicrobianos como promotores de crescimento, seguida, em 2020, da proibição da produção de rações contendo essas substâncias. FERREIRA et al., 2025; SHAO; WANG)

No Brasil, as restrições tiveram início em 1988 com a proibição da avoparcina como aditivo zootécnico, sendo ampliadas em 2009 para diferentes classes de antimicrobianos (anfenicóis, tetraciclínas, betalactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas de 3ª e 4ª geração, fluoroquinolonas e sulfonamidas sistêmicas – Normativa nº26/2009); em 2012, foram proibidos o uso de espiramicina e eritromicina (Normativa nº14/2012) e, posteriormente, em 2016, houve a proibição do sulfato de colistina como aditivo zootécnico pela Normativa nº45/2016 publicada pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). (MAPA, 2009; MAPA, 2012; MAPA, 2016)

No entanto, apesar da implementação dessas medidas regulatórias, o uso histórico de antimicrobianos na profilaxia, metafilaxia e como promotores de crescimento continua influenciando a circulação e a manutenção da resistência antimicrobiana (RAM) em populações animais e nos diferentes ambientes. Além disso, uso inadequado e/ou não conforme às regulamentações ainda ocorre em algumas regiões, contribuindo para a persistência da pressão seletiva sobre as comunidades bacterianas. Mesmo após a proibição de determinados antimicrobianos para fins específicos, os genes de resistência previamente selecionados podem permanecer disseminados em plasmídeos, integrons e outros elementos genéticos móveis,

favorecendo sua manutenção e transferência entre bactérias. Dessa forma, a pressão seletiva exercida ao longo de décadas de utilização desses compostos foi suficiente para impulsionar a disseminação da RAM, cujos efeitos continuam sendo observados mesmo após a adoção de medidas restritivas (GREFF; POSGAY; LAKATOS; VARGA, 2026)

A resistência antimicrobiana (RAM) foi classificada como uma das dez principais ameaças globais de saúde pública. Diante disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) exigem uma cooperação internacional e multidisciplinar acerca do combate da RAM. E, embora essas medidas de controle do uso de antimicrobianos representem avanços importantes no combate à resistência antimicrobiana, a persistência de genes de resistência em ambientes, animais e humanos evidencia a necessidade de uma abordagem integrada baseada no conceito *One Health*. Diante disso, as análises *in silico* de genomas de bactérias depositados em bancos de dados especializados têm se tornado ferramentas essenciais para a vigilância epidemiológica, uma vez que permite identificar, monitorar e compreender a distribuição de genes de resistência e virulência em diferentes nichos ecológicos. Essa abordagem possibilita o aproveitamento de informações genômicas frequentemente subutilizadas após sua deposição em bancos públicos, explorando sob diferentes perspectivas dados já disponíveis e favorecendo a geração de conhecimento sem a necessidade de novas etapas de sequenciamento. A integração dessas informações contribui para a compreensão dos fluxos de disseminação da resistência antimicrobiana entre os ambientes humano, animal e ambiental, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de controle e uso racional de antimicrobianos (MAJUMDAR; BAGCHI; LOIZOU; BUCK, 2026; WHO, 2017).

3.7 CONCLUSÃO

A análise dos 1955 genomas de *Pseudomonas* spp. demonstrou ampla distribuição de fatores de virulência e genes de resistência aos antimicrobianos em genomas de origem humana, animal e solo e solo. Os genes de virulência relacionados à motilidade, formação de biofilme e colonização, como as famílias *fli*, *flg*, *fle* e *alg*, apresentaram ampla distribuição, o que demonstra que características associadas à persistência ambiental e ao potencial patogênico são conservadas entre os genomas analisados. Os genes relacionados à resistência intrínseca, especialmente aqueles associados às bombas de efluxo do sistema RND, bem como as betalactamases cromossômicas *bla_{OXA-50}* e *bla_{PDC}*, apresentaram elevada frequência em praticamente todos os ambientes avaliados, reforçando seu papel na adaptação e sobrevivência do gênero. Além disso, foram detectados genes relacionados à resistência adquirida, de elevada relevância clínica, como *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}* e *bla_{KPC}*, evidenciando a circulação de determinantes associados à resistência aos carbapenêmicos em diferentes compartimentos ecológicos. Em conjunto, os resultados indicam que genomas bacterianos em humanos e animais abrigam a maior abundância de genes de resistência aos antimicrobianos e de virulência, enquanto o solo e a água abrigam menores frequências. Os ambientes naturais participam da manutenção e disseminação de determinantes de resistência e virulência, o que reforça a necessidade de estratégias integradas de vigilância sob a abordagem *One Health*. Além disso, o estudo demonstra o potencial da exploração de bancos públicos de dados genômicos como ferramenta para compreender padrões ecológicos e epidemiológicos da resistência antimicrobiana em larga escala.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral, os resultados obtidos nos Capítulos I e II demonstram que espécies de *Pseudomonas* spp. presentes em diferentes ambientes constituem importantes reservatórios de genes de resistência antimicrobiana e fatores de virulência. A associação observada entre resistência e virulência, aliada à capacidade dessas bactérias de persistirem em ambientes naturais e antropizados, reforça seu potencial de disseminação entre diferentes compartimentos ecológicos. Esses achados evidenciam a necessidade de tratamento de biofertilizantes agrícolas antes de serem utilizados no solo, por exemplo, a compostagem junto somada com biocarvão, o tratamento de águas de rio e residuárias para irrigação, além do monitoramento da RAM, fundamentadas na abordagem *One Health*, visando compreender e mitigar os impactos da resistência antimicrobiana sobre a saúde humana, animal e ambiental. Dessa forma, este estudo está alinhado com os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) 3 (Saúde e Bem-estar), 6 (Água potável e saneamento), 11 (Cidades e Comunidades Sustentáveis), 12 (Consumo e produção responsáveis), 14 (Vida na água) e 15 (Vida terrestre). Apesar das importantes contribuições deste trabalho para a compreensão da ecologia da RAM em *Pseudomonas* spp., indicamos algumas limitações inerentes a cada abordagem e perspectivas de futuras investigações.

A interpretação dos resultados do Capítulo I demonstra a necessidade de análises complementares para uma caracterização mais completa do perfil de resistência antimicrobiana das cepas de *Pseudomonas* spp. Dessa forma, a realização de testes fenotípicos adicionais de resistência antimicrobiana (RAM) é fundamental para melhor definição do perfil de multirresistência. Além disso, a avaliação da capacidade de formação de biofilme pode fornecer informações importantes sobre o potencial de persistência ambiental e clínica das cepas, uma vez que essa característica está frequentemente associada ao aumento da tolerância a antimicrobianos e à dificuldade de erradicação microbiana.

Além disso, faz-se necessário, posteriormente, uma investigação a nível molecular por meio da detecção de genes de resistência, com ênfase em genes de resistência, como o *mcr*, associado à resistência à colistina, bem como outros genes relevantes para diferentes classes de antimicrobianos. A aplicação de técnicas de sequenciamento genômico permitiria uma análise mais abrangente do resistoma e dos possíveis elementos genéticos móveis envolvidos na disseminação da resistência. Ademais, vale salientar acerca da importância de aumentar o número amostral, a fim de garantir maior representatividade estatística dos dados. Por fim, a avaliação da presença de resíduos de antimicrobianos no ambiente estudado é essencial para compreender possíveis pressões seletivas responsáveis pela manutenção e disseminação dos genes de resistência no ecossistema.

Quanto ao Capítulo II, embora a análise *in silico* tenha permitido a avaliação de um grande conjunto de genomas de *Pseudomonas* spp. provenientes de diferentes origens, algumas limitações devem ser consideradas. Os resultados dependem diretamente da qualidade dos genomas e das informações disponibilizadas nos bancos de dados públicos, os quais podem apresentar vieses relacionados à representatividade das amostras, especialmente devido à predominância de genomas de origem clínica. Além disso, a detecção de genes de resistência antimicrobiana e virulência não permite inferir, isoladamente, sua expressão ou atividade biológica, uma vez que fatores regulatórios e condições ambientais podem influenciar diretamente esses mecanismos.

Dessa forma, estudos futuros devem integrar análises genômicas, transcriptômicas e fenotípicas, permitindo avaliar não apenas a presença, mas também a expressão e funcionalidade desses determinantes genéticos. Adicionalmente, a caracterização de elementos genéticos móveis, como plasmídeos, integrons e transposons, poderá contribuir para a compreensão dos mecanismos envolvidos na disseminação horizontal da resistência

antimicrobiana. Também são recomendados estudos que ampliem a representatividade de amostras ambientais, especialmente de solo e água, bem como investigações que integrem genomas humanos, animais e ambientais dentro da perspectiva *One Health*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAL, M. Y.; **The Impact of Beneficial Microorganisms on Soil Vitality: A Review.** Science Publishing Group. v. 10, n. 2. 2024.
- ADENIPEKUM, E. O.; AKINLEYE, E. F.; TEWOGBAD, O. A.; IWALOKUN, B. A. **Detection of virulence genes and multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from a public hospital in Lagos, Nigeria.** Scientific African. v. 22. 2023.
- AGGA; G. E.; LOOFT, T.; SISTANI, K. R.; **Enrichment of soil microbiome and antimicrobial resistance genes following poultry litter application.** The Science of the Total Environment. 2025.
- AHMED, M. O.; ABOUZEED, Y. M.; DAW, M. A.; **Global initiatives to phase-out colistin use in food-producing animals.** Open Veterinary Journal. 2025.
- AI-KHALAIFAH, H.; RAHMAN, M. H.; AI-SURRAYAI, T.; AI-DHUMAIR, A.; **A One-Health Perspective of Antimicrobial Resistance (AMR): Human, Animals and Environmental Health.** Life. v. 15, n. 10, p. 2025.
- ALGAMMAL, A. M.; EIDAROOS, N. H.; ALFIFI, K. J.; ALATAWY, M.; AL-HARBI, A.; ALANAZI, Y. F.; GHOBASHY, M. O.; KHAFAGY, A. R.; ESAWY, A. M.; EL-SADDA, S. S.; HETTA, H. F.; EL-TARABILI, R. M.; ***oprL* Gene Sequencing, Resistance Patterns, Virulence Genes, Quorum Sensing and Antibiotic Resistance Genes of XDR *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Broiler Chickens.** Infect and Drug Resistance. 2023.
- ALHARBI, N. K.; EL-SAWY, N. A.; DAHRAN, N. A.; ATWAH, B.; AL-KUSHI, A. G.; ALHARBI, M.; ASBDELKHALIG, S. M.; MOSBAH, R. A.; MANSOUR, A. T.; BEDARY, M. M.; **Comparative phenotypic and genotypic analysis of distinct *Pseudomonas aeruginosa* T3SS effector genotypes.** Frontiers in Cellular Infection Microbiology. v. 16. 2026.
- ALLEGRINI, M.; ZABALOY, M. C.; **Anaerobic digestates in agricultural soils: A systematic review of their effects on antibiotic resistance genes.** Revista Argentina de Microbiologia. 2024.
- ARAUJO, H. P.; JACOBS, S. H.; FRANCO, G. R.; VENANCIO, T. M. **Phylogenetic analysis and population structure of *Pseudomonas alloputida*.** Genomics. 2021.
- ALTHAFERY, R. S.; ALFOUZAN, W. A.; MUSTAFA, A. S.; **Antibiotics Resistance Profile of Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* Obtained from Farwaniya Hospital in Kuwait Using Phenotypic and Molecular Methods.** Antibiotics. v. 14, n. 6. 2025.
- AMBREETHA, S.; ZINCKE, D.; BALACHANDAR, D.; MATHEE, K.; **Genomic and metabolic versatility of *Pseudomonas aeruginosa* contributes to its inter-kingdom transmission and survival.** Journal of Medical Microbiology. v. 73. 2024.
- ANDERSON, J. H.; DAVIS, M.; PAGE, A. M.; BOWER, C. W.; SMITH, G.; JACOB, J. T.; ANDERSSON, D. I.; WEISS, D. S.; SATOLA, S. W.; **Prevalence of colistin heteroresistance in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and association with clinical outcomes in patients: an observational study.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. v. 77, n. 3. 2021.
- ANTONY, B. T.; OSBORNE, J. W.; BENJAMIN, L. K.; **Antibiotic: a boon to mankind and doom to the environment - an insight on biological and non-biological degradation processes.** Frontiers in Microbiology. v. 17. 2016.
- ATANASOVA, A.; AMON, T.; ROESLER, U.; FRIESE, A.; MERLE, R.; KABELITZ, T.; **Temporal dynamics of antimicrobial resistance gene abundances in chicken manure and**

anaerobic digestate. *Frontiers in Antibiotics*. v. 4. 2025.

ATASSI, G.; MEDERNACH, R.; SCHEETZ, M.; NOZICK, S.; RHODES, N. J.; BELCASTER, M. M.; MURPHY, K. R.; ALISOLTANI, A.; OZER, E. A.; HAUSER, A. R. **Genomics of Aminoglycoside Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Bloodstream Infections at a United States Academic Hospital.** *Microbiology Spectrum*. v. 11, n. 3, p. 3-6. 2023.

AZAM, M. W.; KHAN, A. U.; **Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*.** *Drug Discovery Today*. v. 24. 2019.

AZEVEDO, L. C. B.; BERTINI, S. C. B.; FERREIRA, A. S.; RODOVALHO, N. S.; FERREIRA, L. F. R.; KUMAR, A. **Microbial contribution to the carbon flux in the soil: A literature review.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2024.

BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J. L.; CANTÓN, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*. v. 19, n. 3. 2008.

BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J. L.; LANZA, V. F.; BELTRÁN, J. R.; GALÁN, J. C.; MILLÁN, A. S.; CANTÓN, R.; COQUE, T. M.; **Evolutionary Pathways and Trajectories in Antibiotic Resistance.** *Clinical Microbiology Reviews*. 2021.

BARATHE, P.; KAUR, K.; REDDY, S.; SHRIRAM, V.; KUMAR, V.; **Antibiotic pollution and associated antimicrobial resistance in the environment.** *Journal of Hazardous Materials Letters*. V. 5. 2024.

BARCIA, M. P. G.; CRUZ, F.; ROCHA, E. P. C.; **The extended Mobility of plasmids.** *Nucleic Acids Research*. v. 53, n. 14. 2025.

BARRANGOU, R.; FREMAUX, C.; DEVEAU, H.; RICHARDS, M.; BOYAVAL, P.; MOINEAU, S.; ROMERO, D. A.; HORVATH, P.; **CRISPR Provides Acquired Resistance Against Viruses in Prokaryotes.** *Science Adviser*. 2007.

BARTH, P. O.; PEREIRA, D. C.; WIHELM, C. M.; TRAGNAGO, K. F.; BARTH, A. L. **Increased rates of *bla*_{NDM} in *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care hospital in southern Brazil.** *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. v. 29, n. 3. p. 1. 2025.

BAWA, H.; MOHAMMED, K.; NUHU, A.; SHUAIBU, A.; AKOREDE, F. R.; ADESOLA, O.; BELLO, M. B.; JIBRIL, A. H.; **Carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients exhibited multidrug resistance in Sokoto, Nigeria.** *Medicine in Microecology*. v. 25. 2025.

BENZ, F.; CAMARA-WILPERT, S.; RUSSEL, J.; WANDERA, K. G.; CEPATE, R.; ARES-ARROYO, M.; GOMES-FILHO, J. V.; ENGLERT, F.; KUEHN, J. A.; GLOOR, S.; MESTRE, M. R.; CUÉNOD, A.; AGUILÁ-SANS, M.; MACCARIO, L.; EGLI, A.; RANDAU, L.; PAUSCH, P.; ROCHA, E. P. C.; BEISEL, C. L.; MADESEN, J. S.; PINILLA-REDONDO, R.; **Type IV-A3 CRISPR-Cas systems drive inter-plasmid conflicts by acquiring spacers in trans.** *Cell Host & Microbe*. V. 32. 2024.

BINH, C. T. T.; HEUER, H.; KAUPENJOHANN, M.; SMALLA, K.; Diverse *aadA* gene cassettes on class 1 integrons introduced into soil via spread manure. *Research in Microbiology*. v. 160, n. 6. 2009.

BOLARD, A.; SCHNIEDERJANS, M.; HAÜSSLER, S.; TRIPONNEY, P.; VALOT, B.; PLÉSIAT, P.; JEANNOT, K. A produção de norspermidina contribui para a resistência a aminoglicosídeos em mutantes *pmrAB* de *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2019** , 63 , e01044-19.

- BORISOVA, D.; KRASTEVA, T. P.; STRATEVA, T.; STOITSOVA, S.; **Biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis: mechanisms of persistence adaptation and pathogenesis.** Microorganisms. v. 13. 2025.
- BORODOVICH, T.; SHKOPOROV, A. N.; ROSS, R. O.; HILL, C.; **Phage-mediated horizontal gene transfer and its implications for the human gut microbiome,** Gastroenterology Report. 2022.
- BOTELHO, J.; GROSSO, F.; PEIXE, L.; **Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* – Mechanisms, epidemiology and Evolution.** Drug Resistance Updates. V. 44. 2019.
- Brasil. Ministério da Saúde. **Nota Técnica nº 74/2022-CGLAB/DAEVS/SVS/MS: aumento na frequência de bactérias multirresistentes produtoras de carbapenemases.** (2023).
- BRCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos: Método de Disco-Difusão (2023). Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Metodo-de-Disco-Difusao-BrCAST-15-ago2023-1.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2025.
- BRCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos.** Acesso em: 10 de junho de 2026.
- CHAGAS, A. P.; BAEZA, L. C.; VOLPATO, F. C. Z.; CALOI, E. A.; MACHADO, L. N. C.; BRANDT, S. B.; GIOPPO, N. M. R.; **Panorama de resistência à colistina em bacilos Gram-negativos do grupo ESKAPE resistentes a carbapenêmicos oriundos de pacientes internados em unidades de terapia intensiva de um hospital universitário em Cascavel, Brasil.** Revista Médica de Minas Gerais. 2025.
- CHANG, C. Y.; CHANG, L. L.; CHANG, Y. H.; LEE, T. M.; CHANG, S. F.; **Characterisation of drug resistance gene cassettes associated with class 1 integrons in clinical isolates of *Escherichia coli* from Taiwan, ROC.** Journal of Medical Microbiology. v. 49, n. 12. 2000.
- CHENG, H. Y.; CHEN, Y. F.; PENG, H. L.; **Molecular characterization of the PhoPQ-PmrD-PmrAB mediated pathway regulating polymyxin B resistance in *Klebsiella pneumoniae* CG43.** Journal of Biomedical Science. v. 17, n. 60. 2010.
- CHENG, H.; DENG, H.; MA, D.; GAO, M.; ZHOU, Z.; LI, H.; LIU, S.; TENG, T.; **Insight into the natural regulatory mechanisms and clinical applications of the CRISPR-Cas systems.** Helyon. v. 10. 2024.
- CHHIBBER, S.; CHANDEL, A.; DEVI, V.; **CRISPR-Cas system in *Pseudomonas aeruginosa* and its association to antibiotic resistance and phage susceptibility.** Research Square. p. 14-17. 2025.
- CLARK, N. C.; OSLOVIK, O.; SWENSON, J. M.; SPIEGEL, C. A.; TENOVER, F. C.; **Detection of a Streptomycin/Spectinomycin Adenylyltransferase gene (aadA) in *Enterococcus faecalis*.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy. v. 43, n. 1. 1999.
- CONCEIÇÃO-NETO, O. C.; COSTA, B. S.; PONTES, L. S.; SANTOS, I. C. O.; SILVEIRA, M.C.; CORDEIRO-MOURA, J. R.; PEREIRA, N. F.; TAVRES-TEIXEIRA, Z.; PICÃO, R. C.; SOUZA, C. M. R.; ASSEF, A. P. D. C.; **Difficulty in detecting low levels of polymyxin resistance in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates: evaluation of Rapid Polymyxin NP test, Colispor Test and SuperPolymyxin medium.** New Microbes and New Infections. v. 36. 2020.
- CÓRDOVA, P.; GANZALEZ, J. P. R.; MARTINEZ, V. R.; FIORE, N.; BASTIAS, R.; ZAMORANO, A.; VERA, F.; BARRUETO, J.; DIAZ, B.; DIAZ, C. I.; **Phytopathogenic *Pseudomonas syringae* as a Threat to Agriculture: Perspectives of a Promising Biological**

- Control Using Bacteriophages and Microorganisms. Horticulturae.** v. 9, n.6., p. 1-4. 2023.
- CRONE, S.; FLÓREZ, M. V.; KVICH, M. V.; KVICH, L.; SAUNDERS, A. M.; MALONE, M.; NICOLAISEN, M. H.; GARCÍA, E. M.; ACOSTA, C. R.; PUERTO, M. C. G.; CALUM, H.; WHITELEY, M.; KOLTER, R.; BJARNSHOLT, T.; **The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*.** Journal of Pathology, Microbiology and Immunology. v. 128, n. 3. 2020.
- CUEBAS, G. G. V.; SANCHEZ, C. A.; BEZOLD, E. L.; WALKER, G. M.; SIDDIQUI, S.; MINBIOLE, K. P. C.; WUEST, W. M.; **Adaptations to cationic biocide exposure differentially influence virulence factors and pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*.** Virulence. v. 15. 2024.
- CUI, E.; ZHOU, Z.; CUI, B.; FAN, X.; ABID, A. A.; CHEN, T.; GAO, F.; DU, Z.; **Effects of nitrogen fertilization on the fate of high-risk antibiotic resistance genes in reclaimed water-irrigated soil and plants.** Environment International. 2024.
- CUI, G.; WANG, X.; HONG, W.; CHEN, Z.; KANG, Y.; **Beyond antibiotics: Multidimensional interventions and coordinated governance against ESKAPE resistance.** Biosafety and Health. p. 1.2026.
- D'COSTA, V. M.; GRIFFITHS, E.; WRIGHT, G.; Expanding the soil antibiotic resistome: exploring environmental diversity. Current opinion in Microbiology. v. 10, n. 5. 2007.
- D'COSTA, V. M.; MCGRANN, K. M.; HUGHES, D. W.; WRIGHT, G. D.; **Sampling the Antibiotic Resistome.** Reports. v. 311, n. 5759. 2025.
- DÍAZ, S. G. N.; ROBLES, O. A.; MOYA, J. M. G. L.; **New definitions of susceptibility categories EUCAST 2019: clinic application.** Revista Española de Quimioterapia. 2022.
- DINAKARAN, S.; ANITHA, P.; SAWANT, A. R.; CHANDRAKESAN, S. D.; KANUNGO, R.; **Screening for mutations in *pmrB* gene to predict potential colistin resistance among the clinical isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*.** Indian Journal of Medicinal Microbiology. v. 58. 2025.
- DOYUK, F.; DOST, K.; **Simultaneous determination of six antibiotics belonging to four different classes in chicken meat by HPLC/DAD and verification by LC-MS/MS.** Food Chemistry. v. 426. 2023.
- ELE, L.; WANG, W.; CHEN, H.; MA, L.; YU, L.; YANG, Y.; QU, Y.; DAI, P.; WANG, D.; MA, X.; **Gene expressions of clinical *Pseudomonas aeruginosa* harboring RND efflux pumps on chromosome and involving a novel integron on a plasmid.** Microbial Pathogenesis. v. 203. 2025.
- EL-FAR, S. W.; ABUKHATWAH, M. W.; **Prevalence of Aminoglycoside Resistance Genes in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Taif, Saudi Arabia—An Emergence Indicative Study.** Microorganisms. v. 11, n. 9. 2023.
- EL-GHANY, W. A. A. ***Pseudomonas aeruginosa* infection of avian origin: Zoonosis and one health implications.** Veterinary World. 2021.
- ENSHAIE, E.; NIGAM, S.; PATEL, S.; RAI, V.; **Livestock Antibiotics Use and Antimicrobial Resistance.** Antibiotics. 2025.
- FALAHAT, S.; SHOJAPOUR, M.; SADEGHI, A.; **Detection of KPC Carbapenemase in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated From Clinical Samples Using Modified Hodge Test and Boronic Acid Phenotypic Methods and Their Comparison With the Polymerase Chain Reaction.** Jundishapur Journal of Microbiology. v. 9, n. 9. 2016.

- FAYYAZI, A.; GHALAVAND, Z.; GOUDARZI, M.; SHARAH, J. Y.; HASHEMI, A.; **The emergence of pan-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Iran: A genomic and phenotypic analysis of clinical isolates, multifactorial resistance mechanisms, and its societal impact.** New Microbes and New Infections. v. 71. 2026.
- FELDGARDEN, M.; BROVER, V.; ESCALONA, N. G.; FRYE, J. G.; HAENDIGES, J.; HOFFMANN, M.; PETTENGILL, J. B.; PRASAD, A. B.; TILLMAN, G. E.; TYSON, G. H.; KLIMKE, W.; **AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence.** Scientific Reports. v. 11. 2021.
- FERREIRA, P. F. A.; BERTHOLOTO, D. M.; NUNES, J. F.; SANT'ANNA, G. S. L.; PATRICIO, T. C. C.; XAVIER, J. F.; SOUZA, H. D. F.; COELHO, S. M. O.; SOUZA, M. M. S.; COELHO, I. S.; **Antimicrobial resistance in agricultural environments in Brazil – A concern from a One Health perspective.** Revista Brasileira de Ciência do Solo. n. 49, p. 11-12. 2025.
- FERREIRA, P. F. A.; ROCHA, F. I. ; HOWE, A. ; BARBOSA, D. R. ; JESUS, E. C. ; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. ; COELHO, I. S **Chemical attributes, bacterial community, and antibiotic resistance genes are affected by intensive use of soil in agro-ecosystems of the Atlantic Forest, Southeastern Brazil.** Environmental Geochemistry and Health. v. 46, 2024.
- FIGUEROA, W.; CAZARES, A.; ASHWORTH, E. A.; WEIMANN, A.; KADIOGLU, A.; FLOTO, R. A.; WELCH, M.; **Mutations in *mexT* bypass the stringent response dependency of virulence in *Pseudomonas aeruginosa*.** Cell Reports. v. 44, 2025.
- FOSBERG, K. J.; REYS, A.; WANG, B.; SELLECK, E. M.; SOMMER, M. O. A.; DANTAS, G.; **The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens.** Science. 2012.
- FOSTER, T. J.; **Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects.** FEMS Microbiology Reviews. v. 41, n. 3. 2017.
- FROELICH, JM; TRAN, K.; WALL, D. Um mutante constitutivo *pmrA* sensibiliza *Escherichia coli* ao ácido deoxicólico. *J. Bacteriol.* **2006** , 188 , 1180–1183.
- FROST, L. S.; LEPLAE, R.; SUMMERS, A. O.; TOUSSAINTI, A.; Mobile Genetic Elements: The Agents Of Open Source Evolution. Nature Publishing Groupe. v.3, p. 1-4. 2005.
- FURLAN, J. P. R.; STEHLING, E. G.; **Detection of β -lactamase encoding genes in feces, soil and water from a Brazilian pig farm.** Environmental Monitoring and Assessment. n.2, v. 76. 2018.
- GANGULY, C.; ROSTAMI, S.; LONG, K.; ARIBAM, S. D.; RAJAN, R.; **Unity among the diverse RNA-guided CRISPR/Cas interference mechanisms.** Journal of Biological Chemistry. 2024.
- GIANIVITTORIO, P. D.; SCHUTZ, K.; HINKEL, L. A.; WARGO, M. J.; **Sphingosylphosphorylcholine is a substrate for the *Pseudomonas aeruginosa* phospholipase C/sphingomyelinase, PlcH.** Microbiology Spectrum. v.13. 2025.
- GILLIEATT, B. F.; COLEMAN, N. V.; **Unravelling the mechanisms of antibiotic and heavy metal resistance co-selection in environmental bacteria.** FEEMS Microbiology Reviews. 2024.
- GIRLICH, D.; NAAS, T.; NORDMANN, P.; Biochemical **Characterization of the Naturally Occurring Oxacillinase OXA-50 of *Pseudomonas aeruginosa*.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 204.

- GLASHUTTER, M.; WIJESINGHE, P.; MATSUBARA, J. A.; **TDP-43 as a potential retinal biomarker for neurodegenerative diseases.** *Frontiers in neuroscience.* 2025.
- GREFF, B.; POSGAY, M.; LAKATOS, E.; VARGA, L.; **Colistin residues and colistin-resistant Enterobacteriaceae in agricultural soils: Sources, risks, and remediation strategies.** *Environmental Research.* v. 294, n. 1. 2026.
- GUO, M. WU, Y.; HUANG, H.; LI, S.; ZHAO, L.; CAO, J.; WANG, C.; **Revealing the critical role of rare bacterial communities in shaping antibiotic resistance genes in saline soils through metagenomic analysis.** V. 491. 2025.
- GUTIÉRREZ, S. B. C.; ADLER, C.; URGEL, M. E.; CRISTÓBAL, R. E.; **Pseudomonas putida and its close relatives: mixing and mastering the perfect tune for plants.** V. 106. 2022.
- HAHN, G. P.; **The type-4 pilus is the major virulence-associated adhesin of *Pseudomonas aeruginosa* – a review.** *Gene.* v.192, n.1. 1997.
- HALL, R. J.; WHELAN, F. J.; CUMMINS, E. A.; CONNOR, C.; MCALLY, A.; MCLNERNEY, J. O. **Gene-gene relationships in an *Escherichia coli* accessory genome are linked to function and Mobility.** *Microbial Genomics.* v. 7, n. 9. 2021.
- HAN, B.; MA, L.; YU, Q.; YANG, J.; SU, W.; HILAL, M. G.; LI, X.; ZHANG, S.; LI, H.; **The source, fate and prospect of antibiotic resistance genes in soil: A review.** *Frontiers in Microbiology.* v. 13. 2022.
- HAO, T.; WANG, Q.; PENG, K.; LV, Y.; LI, C.; WANG, M.; FEIL, E.; WANG, Z.; LI, R.; **Co-occurrence of resistance and virulence plasmids in a *bla*_{NDM-5}-positive *Escherichia coli* ST602 clone across *One Health* sectors in China.** *Journal of Hazardous Materials.* 2026.
- HASAN, C. M.; DUTTA, D.; NGUYEN, A. N. T.; **Revisiting Antibiotic Resistance: mechanistic Foundations to Evolutionary Outlook.** *Antibiotics.* 2021.
- HENRIKSEN, A. S.; JEANNOT, K.; OLIVER, A.; PERRY, J. D.; PLETZ, M. W.; STEFANI, S.; MORRISSEY, I.; LONGSHAW, C.; **In vitro activity of cefiderocol against European *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp., including isolates resistant to meropenem and recent β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations.** *Microbiology Spectrum.* 2024.
- HERRERA, J. I. L.; GUERRERO, A.; MARTÍNEZ, M. M.; GONZÁLEZ, Y. R.; ARREOLA, G. A.; RODRÍGUEZ, A. C.; DAVILA, S. F.; CASTRO, R. R.; RIVERA, G.; GARCÍA, V. B.; VÁSQUEZ, A. V. M.; **Agricultural Soil as a Reservoir of *Pseudomonas aeruginosa* with**
- HORCAJADA, J. P.; MONTERO, M.; OLIVER, A.; SORLÍ, L.; LUQUE, S.; ZORRILLA, S. G.; BENITO, N.; GRAU, S.; **Epidemiology and Treatment of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Infections.** *Clinical Microbiology Reviews.* 2019
- ISHINO, Y.; KRUPOVIC, M.; FORTERRE, P.; **History of CRISPR-Cas from Encounter with a Mysterious Repeated Sequence to Genome Editing Technology.** *Journal of Bacteriology.* 2018.
- JAGGER, K. S.; BAHNER, D. R.; WARREN, R. L. Protease phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with cystic fibrosis. **J. Clin. Microbiol.**17(1):55-59, jan.1983.
- JALIL, H.; SHAMS, K.; ULLAH, A.; KHAN, I.; AHMAD, S.; SALEEM, A.; KHAN, K.; SALIM, M.; ABIDEEN, S. A.; ALJASIR, M. A.; IRFAN, M.; **Molecular and Computational**

Insights of Novel Mutations in Aminoglycoside-Modifying Genes of *P. aeruginosa*. Molecular Biotechnology. 2025.

JANDA, J.M.; BOTTONE, E.J. *Pseudomonas aeruginosa* enzyme profiling: predictor of potential invasiveness and use as an epidemiological tool. **J Clin Microbiol.** v14. P. 55-60. 1981

JANSEN, W.; HOUT, J.; WIEGEL, J.; IATRIDOU, D.; CHANTTZIARAS, I.; BRIYNE, N.; **Colistin Use in European Livestock: Veterinary Field Data on Trends and Perspectives for Further Reduction.** Veterinary Sciences. v. 9, n. 11., p. 1-2. 2022.

JIN, L.; YE, H.; XU, H.; SHAHZADI, A.; PAN, X.; LOU, D.; **Genomic epidemiology and characterization of difficult-to-treat resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates co-harboring blaOXA-50 and crpP causing bronchiectasis.** Scientific Reports. 2025.

JOO, H.; EOM, H.; CHO, Y.; RHO, M.; SONG, W. J.; **Discovery and Characterization of Polymyxin-Resistance Genes *pmrE* and *pmrF* from Sediment and Seawater Microbiome.** Microbiology Spectrum. Genetics and Molecular Biology. 2023.

JOUY, E., HAENNI, M., DEVENDEC, L.L., ROUX, A.L., CHÂTRE, P., MADEC, J.Y., KEMPF, I. **Improvement in routine detection of colistin resistance in *E.coli* isolated in veterinary diagnostic laboratories.** Journal of Microbiological Methods. 2017. doi: 10.1016/j.mimet.2016.11.017

KADKHODA, H.; GHOLIZADEH, P.; KAFIL, H. S.; GHOTASLOU, R.; PIRZADEH, T.; REZAAEE, M. A.; NABIZADEH, E.; FEIZI, H.; AGHAZADEH, M.; **Role of CRISPR-Cas systems and anti-CRISPR proteins in bacterial antibiotic resistance.** Heliyon. v. 10. 2024.

KINOBE, R.; PICARD, J.; CROWE, M.; FITZGERALD, Y. H. **Systematic evaluation and meta-analysis of prevalence and trends for antibiotic resistance in Canine *Pseudomonas* infections.** v. 317. 2026.

KOBS, V. C.; VALDEZ, R. E.; MEDEIROS, F.; FERNANDES, P.; DEGLMANN, R. C.; GERN, R. M.; FRANÇA, P. H. C.; **Mcr-1-carrying Enterobacteriaceae isolated from companion animals in Brazil.** Pesquisa Veterinária Brasileira. v. 40, n. 9. 2020.

KOLESNIK, M. V.; FEDOROVA, I.; KARNEYEVA, K. A.; ARTAMONOVA, D. N.; SEVERINOV, K. V.; **Type III CRISPR-Cas Systems: Deciphering the Most Complex Prokaryotic Immune System.** Biochemistry (Moscow). 2021.

KONG, M.; WANGB, M.; LIANG, S.; CHENB, H.; ZHANG, S.; ZHENG, M.; ZHANG, C. **Relationship between antibiotic resistance genes and microbiome in the Arctic marine sediments.** Marine Environmental Research. 2025.

KUANG, Z.; BENNETT, R. C.; LIN, J.; HAO, Y.; ZHU, L.; AKINBI, H. T.; LAU, G. W.; **Surfactant phospholipids act as molecular switches for premature induction of quorum sensing dependent virulence in *Pseudomonas aeruginosa*.** Virulence. v. 11. 2020.

KUMMERLI, R. **Iron acquisition strategies in pseudomonads: mechanisms, ecology, and evolution.** Biometals. 2022.

LANGENDONK, R. F.; NEIL, D. R.; FOTHERGILL, J. L.; **The Building Blocks of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Implications for Current Resistance-Breaking Therapies.** Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021.

- LARROTA, J. S. R.; ECKHARD, U.; **An Introduction to Bacterial Biofilms and Their Proteases, and Their Roles in Host Infection and Immune Evasion.** Biomolecules. 2022.
- LAWTER, K.; SANTOS, F. G.; OYAMA, L. B.; RUBINO, F.; MORRISON, S.; CREEVEY, C. J.; MCGRATH, J. W.; HUWS, S. S.; **Resistome Analysis of Global Livestock and Soil Microbiomes.** Frontiers in Microbiology. v. 13. 2022.
- LEE, C.; PARK, Y.; PARK, H.; KWAK, K.; LEE, H.; YUN, J.; LEE, D.; LEE, J.; LEE, S. H.; KANG, L. W.; **Structural insights into alterations in the substrate spectrum of serine- β -lactamase OXA-10 from *Pseudomonas aeruginosa* by single amino acid substitutions.** Emerging Microbes & Infections. v. 13. 2024.
- LEE, H.; HSU, F. F.; TURK, J.; GROISMAN, E. A.; **The PmrA-regulated pmrC gene mediates phosphoethanolamine modification of lipid A and polymyxin resistance in *Salmonella enterica***
- LETIZIA, M.; DIGGLE, S. P.; WHITELEY, M. ***Pseudomonas aeruginosa*: ecology, evolution, pathogenesis and antimicrobial susceptibility.** Nature Reviews Microbiology. 2025.
- LI, B.; WANG, Z.; QIAO, B.; LIU, T.; LI, S.; ZHAO, L.; WEI, L.; HAN, L.; **Mechanisms and Applications of *Pseudomonas monteilii* SX001: A Promising Agent for Improving Cucumber Tolerance to Salt Stress.** v.4. 2024.
- LI, C. A.; TIWARI, J. G.; WANG, J.; YOU, Z. Y.; DUAN, X. X.; LI, Y.; LIU, B. T.; **Genetic and virulence analysis of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in farm animals in Shandong province, China: implications for human health.** BMC Microbiology. 2026.
- LI, J.; BAI, R.; CHEN, W.; REN, C.; YANG, F.; TIANA, X.; XIAO, X.; ZHAO, F.; **Efficient lead immobilization by bio-beads containing *Pseudomonas rhodesiae* and bone char.** Journal of Hazardous Materials. V. 447. 2023.
- LI, J.; LIU, Y.; JANG, J.; CHEN, F.; ZHANG, N.; KANG, X.; LIU, L.; WANG, Y.; XIA, Q.; ZHU, C.; KUANG, D.; **Type I-E* CRISPR-Cas of *Klebsiella pneumoniae* upregulates bacterial virulence by targeting endogenous histidine utilization system.** American Society for Microbiology. v. 10. 2025.
- LI, T.; HUANG, X.; YUAN, Z.; WANG, L.; CHEN, M.; SU, F.; LING, X.; PIAO, Z.; **Pyocyanin induces NK92 cell apoptosis via mitochondrial damage and elevated intracellular CA2⁺.** v. 25. 2019.
- LI, X. Z.; PLÉSIAT, P.; NIKAIIDO, H.; **The Challenge of Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria. 2015.** Clinical Microbiology Reviews. n. 18, v. 28. 2015.
- LIAO, C.; HUANG, X.; WANG, Q.; YAO, D.; L. W.; **Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* and antivirulence strategies to combat its drug resistance.** Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. v.12. 2022.
- LIN, J.; XU, C.; FANG, R.; CAO, J.; ZHANG, X.; ZHAO, Y.; DONG, G.; SUN, Y.; ZHOU, T.; **Resistance and Heteroresistance to Colistin in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Wenzhou, China.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy. v. 63, n. 10. 2019.
- LISTER, P. D.; WOLTER, D. J.; HANSON, N. D.; **Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms.** Clinical Microbiology Reviews. 2009.
- LIU, B.; SHEN, Z.; ZHOU, Q.; REN, J.; WANG, H.; ZHANG, D.; PAN, X.; **Antibiotic**

resistance genes in the animal manure-amended soil-plant system: Occurrence, transmission, bacterial hosts, and human health risks. Ecotoxicology and Environmental Safety. v. 303, p. . 2025.

LIU, J. H.; LIU, Y. Y.; SHEN, Y. B.; YANG, J.; WALLSH, T. R.; WANG, Y.; SHEN, J.; **Plasmid-mediated colistin-resistance genes: *mcr*.** Trends in Microbiology. v. 32, n. 4. 2024.

LIU, T. Y.; DOUDNA, J. A.; **Chemistry of Class 1 CRISPR-Cas effectors: Binding, editing, and regulation.** Journal of Biological Chemistry. 2020.

LLORENTE, L. I.; ACERO, L. A.; LÓPEZ, F. J. C.; FLOREN, L.; **Evaluating the drop test method in measuring colistin susceptibility of *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.** Journal of Medical Microbiology. 2022.

LOO, E.; TELLAPRAGADA, C.; RAZAVI, M.; GISKE, C.; **Molecular epidemiology and genetic determinants of β -lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis in Stockholm, Sweden.** Clinical Microbiology and Infection. 2026.

LOPES, E. S.; SOUZA, L. C. A.; SANTAREN, K. C. F.; PARENTE, C. E. T.; SELDIN, L. **Microbiome and Resistome in Poultry Litter-Fertilized and Unfertilized Agricultural Soils.** Antibiotics. 2025.

LUZ, A. C. O.; JÚNIOR, W. J. S.; JÚNIOR, J. B. N.; SILVA, J. M. A.; BALBINO, V. Q.; BALBINO, T. C. L. **Características genéticas e análise filogenética de cepas clínicas brasileiras de *Pseudomonas aeruginosa* portadoras do sistema CRISPR/Cas.** Genética Atual. 2021.

MAFIZ, A. I.; HE, Y.; ZHANG, W.; ZHANG, Y. **Soil bacteria in urban community gardens have the potential to disseminate antimicrobial resistance through horizontal gene transfer.** Frontiers in Microbiology. v. 12, p. 771-707. 2021.

MAHDI, I.; FAHSI, N.; HIJRI, M.; SOBEH, M.; **Antibiotic resistance in plant growth promoting bacteria: A comprehensive review and future perspectives to mitigate potential gene invasion risks.** Frontiers in Microbiology. v.13. 2022.

MAJIDI, S.; ZABOLI, F.; KHOSHBAKHT, R.; FATTAHI, E.; KHOSRAVI, M.; **Antimicrobial resistance profile, resistance gene distribution, and genotypic characterization of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates from hospitals in northern Iran.** Gene Reports. V.42. 2026.

MAJUMDAR, A.; BAGCHI, D.; LOIZOU, I. K.; BUCK, M. **The One Health resistome: Integrating environmental, microbial, and human antimicrobial resistance surveillance and risk analysis in the digital age.** v. 513. 2026.

MANAGO, A. BECKER, K. A.; CARPINTEIRO, A.; WILKER, B.; SODDEMANN, M.; SEITZ, A. P.; EDWARDS, M. J.; GRASSMÉ, H.; SZABÓ, I.; GULBINS, W.; ***Pseudomonas aeruginosa* Pyocyanin Induces Neutrophil Death via Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Mitochondrial Acid Sphingomyelinase.** v. 22. n. 13. 2015.

MANOHARAN, H.; LALITHA, A. K. V.; MARIPPAN, S.; SEKAR, U. **Molecular Characterization of High-Level Aminoglycoside Resistance among *Enterococcus* Species.** Journal of Laboratory Physicians. 2022.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016 (2016). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos->

pecuarios/alimentacao-animal/arquivosalimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-45-de-22-de-novembro-de2016.pdf/view. Acesso em: 17 abr. 2026.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 26, de 9 de julho de 2009 (2009). **Aprova o Regulamento Técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário (2009).** Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivosalimentacaoanimal/legislacao/instrucao-normativa-no-26-de-9-de-julho-de-2009.pdf/view>. Acesso em: 10 jul. 2025.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 14 de 17 de maio de 2012. **Regulamento para a importação, fabricação e uso das substâncias antimicrobianas espiramicina e eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico na alimentação animal** (2012). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivosalimentacaoanimal/legislacao/instrucao-normativa-no-14-de-17-de-maio-de-2012.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2025.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016** (2016). Disponível em: MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 14 de 17 de maio de 2012. Regulamento para a importação, fabricação e uso das substâncias antimicrobianas espiramicina e eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico na alimentação animal (2012). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumos-agropecuarios/insumospecuarios/alimentacao-animal/arquivosalimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-14-de-17-de-maio-de-2012.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2025.

MARTÍN, I. J.; MEJÍAS, M. S.; MCCLEAN, S. ***Pseudomonas aeruginosa: An Audacious Pathogen with an Adaptable Arsenal of Virulence Factors.*** International Journal of Molecular Sciences. v. 22, N. 6. 2021.

MARTÍNEZ, J. L.; **Interactions among Strategies Associated with Bacterial Infection: Pathogenicity, Epidemicity, and Antibiotic Resistance.** Clinical Microbiology Reviews. v. 15, n. 4. 2002.

MATTICK, J. S. **Type IV Pili and Twitching Motility.** Annual Review of Microbiology. v. 56, 2002.

MCPHEE, LEWENZA, HANCOCK. **Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in *Pseudomonas aeruginosa*.** Molecular Microbiology. v. 50, n.1. 2003.

MCPHEE, LEWENZA, HANCOCK. **Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in *Pseudomonas aeruginosa*.** Molecular Microbiology. v. 50, n.1. 2003.

MEHTA, R. S.; PETIT, R. A.; READ, T. D.; WEISSMAN, D. B.; **Detecting patterns of accessory genome coevolution in *Staphylococcus aureus* using data from thousands of genomes.** BMC Bioinformatics. v. 24, n. 243. 2023.

MICHAELIS, C.; GROHMANN, E. **Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Biofilms.** Antibiotics. v. 12, n. 2. , 2023.

- MILLAN, A. S.; MACLEAN, C.; **Fitness Costs of Plasmids: a Limit to Plasmid Transmission.** Microbiology Spectrum. v. 5, n. 6. 2017.
- MILLER, W. R.; ARIAS, C. A.; **ESKAPE pathogens: antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics.** Nature Reviews Microbiology. 2024.
- MOELLERING, R. C.; JR, M. D.; **NDM1 – A cause for Worldwide Concern.** The New England Journal of Medicine. 2010.
- MOHAMMADI; AHMED, N.; **Genetics of Bacterial Alginate: Alginate Genes Distribution, Organization and Biosynthesis in Bacteria.** Current Genomics. 2007.
- MOHANTY, S.; MISHRA, S.; SASWAT, S.; MOHANTY, B.; **Interconnected reservoirs and escalating resistance in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: An One Health review.** Microbial Pathogenesis. v. 215. 2026.
- MOMTAZ, A. A.; NASSAR, F. R.; SOHAIR, A. N.; HUSSIEN, S. H. A.; **Production of phospholipase C from *Pseudomonas fluorescens* MICAYA 2023.** Egyptian Journal of Chemistry. v. 68. 2025.
- MOURSI, S. A.; SALEEM, M.; ALHARBI, M. S.; RAKHA, E.; ALSHAMMARI, A.; ABORAS, R.; HOSSAIN, A.; ALSHUBRUMI, S.; ALNAZHA, K.; ALKHATEEB, A.; KHAJA, A. S. S.; **Resistance patterns and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalized patients: A Saudi Arabian study. 2025.**
- MUKHOPADHYAY, R.; DRIGO, B.; SARKAR, B.; **Mitigation potential of antibiotic resistance genes in water and soil by clay-based adsorbents.** Materials Sustainability. 2024.
- NAAS, T.; CUZON, G.; VILLEGAS, M. V.; LARTIGUE, M. F.; QUINN, J. P.; NORDMANN, P.; **Genetic Structures at the Origin of Acquisition of the β -Lactamase *bla*_{KPC} Gene. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** v. 52, n. 4. 2008.
- NANJUNDAPPA, A.; RAM, A. B.; RANADEV, P.; REVANNA, A.; **Pseudomonas species in soil as a natural resource for plant growth promotion and biocontrol characteristics an overview.** Madras Agricultural Journal. v. 108, 2022.
- NAVA, A. R.; DANESHIAN, L.; SARMA, H.; **Antibiotic resistant genes in the environment exploring surveillance methods and sustainable remediation strategies of antibiotics and ARGs.** Environmental Research. v. 215. 2022.
- NORDMANN, P.; NAAS, T.; POIREL, L.; **Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*.** Emerging infectious diseases. v. 17, v. 10. 2011.
- NUNES, J. F.; PATRÍCIO, T. C. C.; FARIAS, B. O.; SOUZA, H. D. F.; PIMENTA, R. L.; CLEMENTINO, M. B. M.; SOUZA, M. M. S.; COELHO, I. S.; COELHO, S. M. O.; **Poultry slaughterhouse wastewater as a source of bacterial antimicrobial resistance. 2024.**
- OLADEJI, O. M.; MUGIVHISAL. L.; OLOWOYOJ. O.; **Antibiotic residues in animal products from some African countries and their possible impact on human health.** Antibiotics.v. 14, n. 1. 2025.
- OLADOSU, V. I.; PARK, S.; SAUER, K.; **Flip the switch: the role of FleQ in modulating the transition between the free-living and sessile mode of growth in *Pseudomonas aeruginosa*.** Journal of Bacteriology. 2024.
- OLIVEIRA, C. C.; LOPES, E. S.; BARBOSA, D. R.; PIMENTA, R. L.; SOBRINHO, N. M. B. A.; COELHO, S. M. O.; SOUZA, M. M. S.; COELHO, I. S.; **Occurrence of the colistin resistance *mcr*-1 gene in soils from intensive vegetable production and native vegetation.** European Journal of Soil Science. v. 70, n. 4. 2019.

- OLIVEIRA, D. M. P.; FORDE, B. M.; KIDD, T.J.; HARRIS, N. A.; SCHEMBRI, M. A., BEATSON, SA, PATERSON, D. L.; WALKER, M. J. **Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens**. Clinical Microbiology Review. v. 33, n. 3. 2020.
- OSERI, M. O.; OTOKUNEFOR, K.; AKOMAH-ABADAIKE, O. N.; **Comparative analysis of three methods for screening for colistin resistant *Escherichia coli***. Scientia Africana. v. 23, n. 2. 2024.
- OUYANG, Z.; HE, W.; JIAO, M.; YU, Q.; GUO, Y.; REFAT, M.; QIN, Q.; ZHANG, J.; SHI, Q.; ZHENG, F.; et al. Caracterização mecanística e biofísica do regulador de resposta à resistência à polimixina PmrA em *Acinetobacter baumannii*. *Front. Microbiol.* **2024** , 15 , 1293990.
- OWAID, H. A.; AL-OUQAILI, M. T.; **Molecular characterization and genome sequencing of *Pseudomonas aeruginosa* and its association with the clustered regularly interspaced palindromic repeat/Cas system**. 2025.
- OWAID, H. A.; OUQAILI, M. T. A.; **Molecular characterization and genome sequencing of selected highly resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and its association with the clustered regularly interspaced palindromic repeat/Cas system**. Heliyon. 2025.
- PAN, Y. ZENG, J.; LI, L.; YANG, J.; TANG, Z.; XIONG, W.; LI, Y.; CHEN, S.; ZENG, Z.; **Coexistence of Antibiotic Resistance Genes and Virulence Factors Deciphered by Large-Scale Complete Genome Analysis**. mSystems. v. 5, n. 3. 2020.
- PANDEY, K.; SAHARAN, B. S.; **Soil microbiomes: a promising strategy for boosting crop yield and advancing sustainable agriculture**. v. 3, n. 54. 2025.
- PARTRIDGE, S. R.; KWONG, S. M.; FIRTH, N.; JENSEN, S. O.; **Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance**. 2018.
- PARTRIDGE, S. R.; KWONG, S. M.; FIRTH, N.; JENSEN, S. O.; **Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance**. Clinical Microbiology Reviews. 2018.
- PASTERAN, F.; DANZE, D.; MENOCAL, A.; CABRERA, C.; CASTILLO, I.; ALBORNOZ, E.; LUCERO, C.; RAPOPORT, M.; CERIANA, P.; CORSO, A.; **Simple Phenotypic Tests To Improve Accuracy in Screening Chromosomal and Plasmid-Mediated Colistin Resistance in Gram-Negative Bacilli**. Journal of Clinical Microbiology. 2020.
- PATEL, S.; PANCHAL, J.; VAHORA, S.; PATEL, A.; CHAUHAN, H.; SHARMA, K.; SABARA, P.; SHRIMALI, M.; ANTIYA, S.; MALAVIYA, K.; TRIVEDI, Y.; HATI, S.; **Whole-Genome Sequencing analysis of Extensively-Drug Resistance (XDR) and Virulence Determinants of carbapenem resistant *Pseudomonas* spp isolated and characterized from mastitis milk in Gujarat, India**. International Dairy Journal. v. 175, 2026.
- PELEGRIN, A. C.; PALMIERI, M.; MIRANDE, C.; OLIVER, A.; MOONS, P.; GOOSSENS, H.; BELKUM, A. V.; ***Pseudomonas aeruginosa*: a clinical and genomics update**. FEMS Microbiology Reviews. v.45, n. 6. 2021.
- PETER, S.; OBERHETTINGER, P.; SCHUELE, L.; DINKELACKER, A.; VOGEL, W.; DORFEL, D.; BEZDAN, D.; OSSOWSKI, S.; MARSCHAL, M.; LIESE, J.; WILLMANN, M.; **Genomic characterisation of clinical and environmental *Pseudomonas putida* group strains and determination of their role in the transfer of antimicrobial resistance genes to *Pseudomonas aeruginosa***. BMC Genomics. v. 18, n. 859. 2017.
- PITCHIAH, S.; GANAPATHY, D.; KAMALA, K.; **Virulence and antimicrobial resistance gene profiling in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with evaluation of**

levofloxacin and amikacin therapy. Microbial Pathogenesis. V. 213. 2026.

Potential Risk to Public Health. Microorganisms. n. 12, v. 11. 2024.

PURI, B.; VAISHYA, R.; VAISH, A.; **Antimicrobial resistance: current challenges and future directions.** Medical Journal Armed Forces India. 2024.

PURSEY, E.; DIMITRIU, T. PAGANELLI, F. L.; WESTRA, E. R.; HOUTE, S. **CRISPR-Cas is associated with fewer antibiotic resistance genes in bacterial pathogens.** Philosophical Transactions of The Royal Society. v. 281, n. 1947. 2021.

QIN, S.; XIAO, W.; ZHOU, C.; PU, C.; DENG, X.; LAN, L.; LIANG, H.; SONG, X.; WU, M.; ***Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics.** Nature. v. 7, p.1. 2022.

QIN, S.; XIAO, W.; ZHOU, C.; PU, C.; DENG, X.; LAN, L.; LIANG, H.; SONG, X.; WU, M.; ***Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics.** Nature. v. 7, p.1. 2022.

QUEENAN, A. M.; BUSH, K.; **Carbapenemases: the versatile beta-lactamases.** Clinical Microbiology Review. 2007.

RABELLO, R. F.; BONELLI, R. R.; PENNA, B. A.; ALBUQUERQUE, J. P.; SOUZA, R. M.; CERQUEIRA, A. M. F.; **Antimicrobial Resistance in Farm Animals in Brazil: An Update Overview.** Animals. v. 10, n. 4. 2020.

RAMIREZ, M. S.; TOLMASKY, M. E.; **Amikacin: uses, resistance and prospects for inhibition.** Molecules. v. 22, n. 12. 2017.

RAMZAM, M.; RAZA, A.; NISA, Z.; ABDEL-MASSIH, R. M.; BAKAIN, R. A.; CABRERIZO, F. M.; CRUZ, T. E. D.; AZIZ, R. K.; MUSHARRAF, S. G.; **Detection of antimicrobial resistance (AMR) and antimicrobial susceptibility testing (AST) using advanced spectroscopic techniques: A review.** v. 172. Trends in Analytical Chemistry. 2024.

REEM, A.; ALMANSOOB, S.; SENAN, A. M.; RAJ, A. K.; SHAH, R.; SHREWASTWA, M. K.; KUMAL, J. P. P.; ***Pseudomonas aeruginosa* and related antibiotic resistance genes as indicators for wastewater treatment.** Heliyon. v.10, n.9, p.3-8, 2024.

RIVERA, C. G.; PARDINES, C. M.; MORENO, J. M. H.; GRANDE, M. P.; RODRIGUEZ, J. C.; PÉREZ, M. L.; **Genomic Analysis of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* from a One Health perspective.** Microorganisms. V. p. 2-3, 2024.

SA, L. S.; A patogenicidade, epidemiologia e os principais fatores de virulência de *Candida Albicans*, uma revisão narrativa. Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciência e Educação. v.12, n. 2. 2026.

SADEGHI, F.; RAJABI, E.; GHANBARI, Z.; FATTAHNIYA, S.; SAMIEE, R.; AKHAVAN, M.; SALEHI, M.; SHAFATI, M.; **Antimicrobial Resistance in Immunocompromised Outpatients: A Narrative Review of Current Evidence and Challenges.** Pharmacoepidemiology. 2025.

SALVADOR, C. B.; TOP, E. M.; STALDER, T. **Plasmids, a molecular cornerstone of antimicrobial resistance in the One Health era.** Nature Reviews Microbiology, v. 22, n. 1, p. 18–32, 2024.

- SARKHEILI, M.; SANA, F. A.; ASLI, S. A.; DAGHDARI, S. G.; **Biofilm formation, pigment production, and virulence gene profiles in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from respiratory and urinary tract infections.** Gene Reports. v. 39. 2025.
- SARTELLI, M.; MARINI, C.; MCNELIS, J.; COCCOLINI, F.; RIZZO, C.; LABRICCIOSA, F. M.; PETRONE, P.; **Preventing and Controlling Healthcare-Associated Infections: The First Principle of Every Antimicrobial Stewardship Program in Hospital Settings.** Antibiotics. 2024.
- SARTORI, M.; TOPPO, S.; LAVEZZO, E.; Molecular resistance mechanisms to newly approved antibiotics (2017–2025) in WHO priority pathogens. Frontiers in Microbiology. v. 16, p. 4. 2026.
- SASSI, A.; BASHER, N. S.; KIRAT, H.; MERADJI, S.; IBRAHIM, N. A.; IDRES, T.; TOUATI, A.; **The Role of the Environment (Water, Air, Soil) in the Emergence and Dissemination of Antimicrobial Resistance: A One Health Perspective.** Antibiotics. v. 14, n. 8. 2025.
- SAWA, T.; KOOGUCHI, K.; MORIYAMA, K.; **Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance.** Journal of Intensive Care. v. 8, n. 13. 2020.
- SCHWARTZ, E. A.; BRAVO, J. P. K.; AHSAN, M.; MACIAS, L. A.; MCCAFFERTY, C. L.; DANGERFIELD, T. L.; WALKER, J. N.; BRODBELT, J. S.; PALERMO, G.; FINERAN, P. C.; FAGERLUND, R. D.; TAYLOR, D. W.; **RNA targeting and cleavage by the type III-Dv CRISPR effector complex.** Springer Nature. V. 15. 2024
- SEN, D.; MUKHOPADHYAY, P.; **Antimicrobial resistance (AMR) management using CRISPR-Cas based genome editing.** Gene and Genome Editing. Elsevier. v. 7. 2024.
- SENDRA, E.; MUÑOZ, A. F.; ZAMORANO, L.; OLIVER, A.; HORCAJADA, J. P.; JUNA, C.; ZORRILLA, S. G.; **Impact of multidrug resistance on the virulence and fitness of *Pseudomonas aeruginosa*: a microbiological and clinical perspective.** Infection. v. 52, p. 1-2. 2024.
- SHAO, Y.; WANG, Y.; YUAN, Y.; XIE, Y.; **A systematic review on antibiotics misuse in livestock and aquaculture and regulation implications in China.** Science of The Total Environment. v. 798, 2021.
- SHEKHAWAT, S. S.; KULSHRESHTHA, N. M.; SAINI, P.; UPADHYAY, A.; GUPTA, A. B.; M, H. J.; SUBRAMANIAN, V.; KUMARI, A.; PAREEK, N.; VIVEKANAND, V. **Antibiotic resistance genes and bacterial diversity: A comparative molecular study of treated sewage from different origins and their impact on irrigated soils.** Chemosphere. 2022.
- SHU, Q.; GAO, H.; LI, R. J.; CHEN, H. Y.; NA, G. S.; **The source and dissemination of ARGs in pristine environments: Elucidating the role of migratory birds in the Arctic.** Journal of Hazardous Materials. v. 480. 2024.
- SILVEIRA, M. C.; SOUZA, M. R.; ALBANO, R. M.; SANTOS, I. C. O.; D'ALICOURT, A. P.; ASSEF, C.; **Exploring the success of Brazilian endemic clone *Pseudomonas aeruginosa* ST277 and its association with the CRISPR-Cas system type I-C.** BMC Genomics. v. 21, n. 255. 2020.
- SILVERIO, M. P.; SCHULTZ, J.; PARISE, M. T. D.; PARISE, D.; VIANA, M. V. C.; NOGUEIRA, W.; RAMOS, R. T. J.; NETO, A. G.; AZEVEDO, V. A. C.; BRENIG, B.; BONELLI, R. Q.; ROSADO, A. S.; **Genomic and phenotypic insight into antimicrobial resistance of *Pseudomonas fluorescens* from King George Island, Antarctica.** Frontiers in

Microbiology. p. 2, 8-12. 2025.

SINGH, M.; BRANCA, A.; KUMAR, A.; ***In silico* identification of conserved amino acids within the resistance-nodulation-division efflux pump proteins of *Pseudomonas aeruginosa***. The microbe. v. 11. 2026.

SLOBODIUK, S.; NIVEN, C.; ARTHUR, G.; THAKUR, S.; ERCUMEN, A.; **Does Irrigation with Treated and Untreated Wastewater Increase Antimicrobial Resistance in Soil and Water: A Systematic Review**. JERPH. v. 18, n. 21. 2021.

SNESRUD, E.; MAYBANK, R.; KWAK, Y.; JONES, A. R.; HINKLE, M. K.; MCGANN, P.; **Chromosomally Encoded *mcr-5* in Colistin-Nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2018.

SOLIMAN, M.; SAID, H. S.; EL-MOWAFY, M.; BARWA, R.; **Novel PCR detection of CRISPR/Cas systems in *Pseudomonas aeruginosa* and its correlation with antibiotic resistance**. Applied Microbial and Cell Physiology. V. 106. 2022.

SONG, M.; WANG, K.; XIE, Y.; WEN, X.; TU, Y.; TENG, T.; LUO, C.; ZHANG, D.; **Impacts of anthropogenic disturbances on antibiotic resistomes in biological soil crusts on the Qinghai-Tibetan Plateau**. Environmental Pollution. V. 367. 2025.

SOUSA, T.; HÉBRAUD, M.; DAPKEVICIUS, M. L. N.; MALTEZ, L.; PEREIRA, J. E.; CAPITA, R.; CALLEJA, C. A.; IGREJAS, G.; POETA, P.; **Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa***. International Journal of Molecular Sciences. 2021.

SOUSA, T.; MACHADO, S.; CANIÇA, M.; RAMOS, M. J. N.; SANTOS, D.; RIBEIRO, M.; HÉBRAUD, M.; IGREJAS, G.; ALVES, O.; COSTA, E.; SILVA, A.; LOPES, R.; POETA, P.; ***Pseudomonas aeruginosa*: One Health approach to deciphering hidden relationships in Northern Portugal**. Journal of Applied Microbiology. v. 6, n.2, p. 7-9. 2025.

SOUSA, T.; WANG, H. Y.; LIN, T. W.; CANIÇA, M.; RAMOS, M. J. N.; SANTOS, D.; SILVA, C.; SARAIVA, S.; BEYROUTHY, R.; BONNET, R.; HÉBRAUD, M.; IGREJAS, G.; POETA, P.; **Mutational analysis of colistin-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: from genomic background to antibiotic resistance**. Pathogens. v. 14. 2025.

STRATEVA, T.; MITOV, I.; **Contribution of an arsenal of virulence factors to pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infections**. Ann Microbiol. 2011.

SU, H.; HU, X.; XU, W.; XU, Y.; WEN, G.; CAO, Y.; **Diversity, abundances and distribution of antibiotic resistance genes and virulence factors in the South China Sea revealed by metagenomic sequencing**. The Science Total of Environment. 2022.

SULTANA, T.; RAHMAN, M.; RAHAMAN, M.; ARAFAT, Y.; HAIDER, G.; NASAR, A.; TALUKDER, A. K.; HOQUE, N.; DAS, Z. C.; **Genomic characterisation of *Pseudomonas asiatica* as an emerging mastitis pathogen in dairy cows with resistance and virulence implications**. Journal of Global Antimicrobial Resistance. v. 44. 2025.

SWAIN, J.; ASKENASY, I.; NAZEER, R. R.; HO, P. M.; LABRINI, E.; MANCINI, L.; XU, Q.; HOLLENDUNG, F.; SHELDON, I.; DICKSON, C.; WELCH, A.; AGBAMU, A.; GODLEE, C.; WELCH, M.; **Pathogenicity and virulence of *Pseudomonas aeruginosa*: Recent advances and under-investigated topics**. Virulence. 2025.

ŚWIDER, K.; BABICKI, M.; BIESIADA, A.; SUSZKO, M.; MIGAS, A. M.; KIODA, K.; **Factors Influencing Antibiotic Prescribing and Antibiotic Resistance Awareness Among Primary Care Physicians in Poland**. Antibiotics. 2025.

- SYMOCHKO, L.; DEMYANYUK, O.; SYMOCHKO, V.; GRULOVA, D.; FEJER, J.; MARIYCHUK, R.; The Spreading of Antibiotic-Resistant Bacteria in Terrestrial Ecosystems and the Formation of Soil Resistome. V. 12, N. 4. 2023.
- TAMILSELVI, A.; MUGESH, G.; **Zinc and antibiotic resistance: metallo-beta-lactamases and their synthetic analogues.** Journal of Biological Inorganic Chemistry. v. 13. 2008.
- TAN, X.; LIU, Q.; YANG, T.; LUO, L.; ZHENG, R.; FENG, D.; CHENG, X.; **Effects of Hxc-T2SS on the phenotypic features and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1.** Microbial Pathogenesis. v. 206. 2025.
- TENOVER, F. C.; NICOLAU, D. P.; GILL, C. M.. **Carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* –an emerging challenge.** Antimicrobial Agents. 2022.
- THACHARODI, A.; LAMONT, I. L.; **Aminoglycoside-Modifying Enzymes Are Sufficient to Make *Pseudomonas aeruginosa* Clinically Resistant to Key Antibiotics.** Antibiotics. 2022.
- THY, M.; TIMSIT, J. F.; MONTMOLLIN, E. **Aminoglycosides for the Treatment of Severe Infection Due to Resistant Gram-Negative Pathogens.** Antibiotics. v. 6, n.12. 2023.
- TILAHUN, M.; KASSA, Y.; GEDEFIE, A.; ASHAGIRE, M. Emerging carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infection its epidemiology and novel treatment options: a review. Infection and Drug Resistance. v. 14, p. 4363-4374. 2021.
- TRIPATHI, A.; KUMAR, D.; CHAVDA, P.; RATHORE, D. S.; PANDIT, R.; BLAKE, D.; TOMLEY, F.; JOSHI, M.; JOSHI, C. G.; DUBEY, S. K. **Resistome rofiling reveals transmission dynamics of antimicrobial resistance genes from poultry litter to soil and plant.** v. 327. 2023.
- TUON, F. F.; DANTAS, L. R.; SUSS, P. H.; RIBEIRO, V. S. T.; **Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: a review.** Pathogens. . v. 2022.
- VASIL, M. L.; ***Pseudomonas aeruginosa*: Biology, mechanisms of virulence, epidemiology.** The Journal of Pediatrics. V. 108, n.5, 1986.
- VAZIRI, F.; PEERAYEH, S. N.; NEJAD, Q. B.; FARHADIAN, A.; **The prevalence of aminoglycoside-modifying enzyme genes (*aac* (6')-I, *aac* (6')-II, *ant* (2'')-I, *aph* (3')-VI) in *Pseudomonas aeruginosa*.** Clinics. v. 66, n. 9. 2011.
- VILLEGAS, M. V.; LOLANS, K.; CORREA, A.; KATTAN, J. N.; LOPEZ, J. A.; QUINN, J. P.; **First Identification of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Producing a KPC-Type Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy. v. 51, n. 4. 2007.
- VOLKE, D. C.; CALERO, P.; NIKEL, P. I.; ***Pseudomonas putida*.** Trends in Microbiology. v. 28, n.6, p. 1-2. 2020.
- WALSH, T. R.; WEEKS, J.; LIVERMORE, D. M.; TOLEMAN, M.A.; **Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study.** v. 11, n. 5. 2011.
- Wang, Q.; Geng, LL; Gao, Z.; Sun, Y.; Li, XL; Sun, SJ; Luo, Y. Microalgas aumentam a adaptabilidade de bactérias epifíticas ao estresse de sulfametoxazol e proliferação de genes de resistência a antibióticos mediados por integron. *Environ. Sci. Technol.* **2024** , 58 , 19397–19407.
- WANG, Y.; YANG, L. Q.; LIU, W.; ZHUANG, J.; **The Effect of Manure Application Rates on the Vertical Distribution of Antibiotic Resistance Genes in Farmland Soil.** Soil Systems.

v. 8. n. 3. 2024.

WASHINO, J. I.; **Horizontal Gene Transfer Systems for Spread of Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria.** *Microbiology and Immunology*. 2025.

WATSON, B. N. J.; CAPRIA, L.; ALSETH, E. O.; PONS, B. J.; BISWAS, A.; LENZI, L.; BUCKLING, A.; HOUTE, S. V.; WESTRA, E. R.; MEADEN, S.; **CRISPR-Cas in *Pseudomonas aeruginosa* provides transient population-level immunity against high phage exposures.** *The ISME Journal*. v. 18, n. 1. 2024.

WEIMER, A.; KOHLSTEDT, M.; VOLKE, D.C.; NIKEL, P. I.; WITTMANN, C.; **Industrial biotechnology of *Pseudomonas putida*: advances and prospects.** *Applied Microbiology and Biotechnology*. V.104, p. 7745-7766. 2020.

WHEATLEY, R. M.; MACLEAN, R. C.; **CRISPR-Cas systems restrict horizontal gene transfer in *Pseudomonas aeruginosa*.** *The ISME Journal*. p. 4-7. 2020.

WHO. World Health Organization. **OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente** (2017). Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. Acesso em: 07 de junho de 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine, 6th Revision*. Geneva: WHO, 2019.

WU, R.; FANG, J.; YANG, Y.; LIU, L.; LIU, H.; DU, S. **Transmission pathways and intrinsic mechanisms of antibiotic resistance genes in soil-plant systems: A review.** *Environmental Technology & Innovation*. v. 37. 2025.

XAVIER, J. F.; COSTA, D. P.; GONÇALVES, J. V. S.; PINTO, M. C. F.; GOULART, R. S.; ZONTA, E.; COELHO, I. S. **Different halophytes orchestrate microbial diversity in the rhizosphere of salinity-impacted soils.** *Applied Soil Ecology*. v. 202, 2024.

XAVIER, K. V. M.; LUZ, A. C. O.; JUNIOR, J. W. S.; MELO, B. S. T.; BATISTA, M. V. A.; SILVA, A. M. A.; BALBINO, V. Q.; BALBINO, T. C. L.; **Molecular epidemiological study of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from hospitals in Brazil by MLST and CRISPR/Cas system analysis.** *Molecular genetics and genomes*. 2025.

XUE, C.; SASHITAL, D.; **Mechanisms of Type I-E and I-F CRISPR-Cas Systems in *Enterobacteriaceae*.** *Genetics and Genetic Tools*. 2019.

YANG, K.; WU, X.; DING, H.; MA, B.; LI, Z.; WANG, Y.; YANG, Z.; YAO, X.; LUO, Y.; **Isolation, Identification, and Antibiotic Resistance, CRISPR System Analysis of *Escherichia coli* from Forest Musk Deer in Western China.** *Microorganisms*. 2025.

YIGIT, H.; QUEENAN, A. M.; ANDERSON, G. J.; SANCHEZ, A. D.; BIDDLE, J. W.; STEWARD, C. D.; ALBERTI, S.; BUSH, K.; TENOVER, F. B.; **Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. v. 45, n. 4.2001.

YIN, R.; CHENG, J.; WANG, J.; LI, P.; LIN, J.; **Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infectious biofilms: challenges and strategies.** *Frontiers in Microbiology*. v. 13. 2022.

YU, Q.; LI, G.; XU, Q.; ZHU, Y.; ***Klebsiella pneumoniae* with Two Carbapenemases: Where Molecular Research Stands Now.** *Infect and Drug Resistance*. v. 18. 2025.

YUAN, P. B.; LING, J. H.; ZHU, J. H.; PENG, C.; CHEN, E. Z.; ZHONG, Y. X.; LIU, W. T.;

- WANG, L. J.; YANG, L.; Proteomics profiling of ertapenem challenged major porin deficient carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Proteomics*. v. 268, p. 104715. 2022.
- ZALEWSKA, M.; BLAZEJEWSKA, A.; CZAPKO, A.; POPOWSKA, M.; **Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Animal Manure – Consequences of Its Application in Agriculture**. *Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy*. 2021.
- ZHA, D. M.; YAN, Y. J.; **Expression regulation of bacterial lipase genes: a review**. *Frontiers in Microbiology*. v. 16. 2025.
- ZHANG, K.; WANG, P.; LI, S.; XIE, X.; WANG, Z.; LI, Y.; JIAO, X.; LI, Q.; **Type I-E CRISPR-Cas system regulates fimZY and T3SS1 genes expression in *Salmonella enterica* serovar Pullorum**. *Veterinary Microbiology*. v. 299. 2024.
- ZHANG, Y. CHENG, D.; ZHANG, Y.; XIE, J.; XIONG, H.; WAN, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, X.; SHI, X.; **Soil type shapes the antibiotic resistome profiles of long-term manured soil**. *Science of The Total Environment*. v. 786. 2021.
- ZHAO, Y. X.; LI, L.; HUANG, Y.; QING, X.; LIU, Z.; LI, S.; ZHU, L.; HU, B.; ZHANG, T.; **Global soil antibiotic resistance genes are associated with increasing risk and connectivity to human resistoma**. *Nature Communications*. 2025.

6. APÊNDICES

6.1 Apêndice A - Informações Sobre a Origem e Caracterização das Cepas de *Pseudomonas* Spp. do Capítulo I

No Capítulo I, foram feitas análises fenotípicas quanto aos fatores de virulência e resistência antimicrobiana em 53 cepas pertencentes ao gênero *Pseudomonas* spp. (Tabela 1A e Tabela 2A), dos quais 40 foram obtidos de amostras de solo coletadas no município de São José do Vale do Rio Preto, região Serrana do estado do Rio de Janeiro, inserida no bioma Mata Atlântica e 13 provenientes de solos salinos localizados em Guaratiba, Rio de Janeiro.

Tabela 1A. Informações das cepas de *Pseudomonas* spp. identificadas, perfil de susceptibilidade e análises de virulência.

ID	ID MALDI	Área	AMI	CAZ	CIP	CPM	ATM	MPM	R	Agar Spot Test	Drop Test	CIM	Hemolisina	Protease Neutra	Protease Alcalina	Lipase	V
SI34	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	R	I	I	R	2	S	S	*	-	Presente	Presente	-	2
SI48	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	I	R	S	1	S	HR	*	-	-	-	-	0
SI52	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	R	I	I	R	R	3	S	HR	*	-	-	-	-	0
SI54	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	I	R	I	1	S	HR	*	Presente	-	-	-	1
SI55	<i>Pseudomonas monteilii</i>	SA2	S	I	I	I	R	R	2	S	HR	*	-	Presente	Presente	Presente	3
SI56	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	R	R	R	I	3	R	HR	*	-	-	-	Presente	1
SI57	<i>Pseudomonas mosselii</i>	SA2	S	I	R	I	R	I	2	S	S	*	-	-	-	Presente	1
SI77	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	I	I	I	S	0	S	R	*	Presente	-	-	-	1
SI152	<i>Pseudomonas putida</i>	SF	S	I	I	I	I	I	0	R	R	R	-	Presente	Presente	Presente	3
SI154	<i>Pseudomonas monteilii</i>	SF	S	I	R	I	R	I	2	R	HR	*	-	-	-	-	0
SI189	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	R	R	R	I	I	S	3	S	S	*	-	-	-	-	0
SI190	<i>Pseudomonas monteilii</i>	SA1	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	-	Presente	Presente	Presente	3
SI192	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	R	I	I	R	I	2	S	R	*	-	Presente	-	-	1
SI193	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	R	I	I	S	1	R	HR	*	-	Presente	Presente	Presente	3
SI196	<i>Pseudomonas monteilii</i>	SA1	S	I	I	I	I	S	0	R	S	*	Presente	Presente	Presente	Presente	4
SI197	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	R	R	I	R	3	S	S	*	-	-	-	-	0
SI198	<i>Pseudomonas rhodesiae</i>	SA2	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	-	-	-	-	0
SI199	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	R	R	I	I	S	2	S	HR	*	-	-	-	Presente	1
SI201	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	R	I	I	R	2	S	HR	*	Presente	-	-	Presente	2
SI202	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	I	I	I	0	S	HR	*	-	-	Presente	Presente	2
SI203	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	I	I	I	0	S	HR	*	-	Presente	Presente	Presente	3
SI204	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	R	R	I	2	S	S	*	-	-	-	-	0
SI267	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	R	I	S	1	R	R	R	-	-	-	-	0

Continua...

Continuação da Tabela 1A.

ID	ID MALDI	Área	AMI	CAZ	CIP	CPM	ATM	MPM	R	Agar Spot Test	Drop Test	CIM	Hemolisina	Protease Neutra	Protease Alcalina	Lipase	V
SI268	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	R	R	I	I	R	S	3	S	HR	*	Presente	Presente	Presente	Presente	4
SI269	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	R	R	I	R	R	4	S	R	*	-	-	-	Presente	1
SI270	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	I	I	S	0	S	HR	*	Presente	Presente	Presente	Presente	4
SI271	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	R	I	I	R	R	3	R	R	R	-	-	-	-	0
SI273	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	I	R	S	1	R	R	R	-	-	-	-	0
SI274	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	I	R	I	1	R	HR	*	-	-	-	-	0
SI275	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	R	I	R	I	2	R	R	R	-	Presente	Presente	Presente	3
SI276	<i>Pseudomonas putida</i>	SA2	S	I	I	I	I	I	0	R	R	R	-	Presente	Presente	Presente	3
SI277	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	R	I	R	R	3	R	R	R	-	Presente	Presente	Presente	3
SI278	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	I	I	I	R	1	S	HR	*	-	Presente	Presente	Presente	3
SI279	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	I	I	I	S	0	S	HR	*	Presente	-	-	-	1
SI280	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	I	I	R	I	1	R	R	R	-	-	-	-	0
SI282	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	I	I	R	I	1	S	HR	*	Presente	Presente	Presente	Presente	4
SI283	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	I	I	I	I	0	R	R	R	-	-	-	-	0
SI284	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	I	I	I	R	1	S	HR	*	Presente	Presente	Presente	Presente	4
SI285	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	I	I	R	I	1	S	S	*	-	Presente	Presente	Presente	3
SI307	<i>Pseudomonas putida</i>	SA1	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	-	-	-	-	0
SS54	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	-	-	-	-	0
SS112	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	-	-	-	Presente	1
SS141	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	Presente	Presente	Presente	-	3
SS161	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	R	R	R	Presente	Presente	Presente	-	3
SS168	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	Presente	Presente	Presente	-	3

Continua...

Continuação da Tabela 1A.

ID	ID MALDI	Área	AMI	CAZ	CIP	CPM	ATM	MPM	R	Agar Spot Test	Drop Test	CIM	Hemolisina	Protease Neutra	Protease Alcalina	Lipase	V
SS173	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	Presente	-	-	-	1
SS174	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	Presente	-	-	-	1
SS175	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	-	-	-	Presente	1
SS176	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	Presente	-	-	-	1
SS179	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	Presente	-	-	-	1
SS197	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	Presente	-	-	-	1
SS250	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	-	Presente	Presente	Presente	3
SS264	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SS	S	I	I	I	I	S	0	S	S	*	Presente	Presente	Presente	Presente	4

Fonte: Elaborado pela Autora.

Tabela 2A. Origem e identificação das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isolada dos solos salinos.

ID	ID NCBI	Espécie de plantas	Localização	Classificação quanto à salinidade
SS54	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Cyperus ligularis</i>	Saquarema-RJ - Lagoa hipersalina	Halotolerante extremo
SS112	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	São Pedro da Aldeia-RJ - Salina desativada	Halotolerante
SS141	<i>P. aeruginosa</i>	<i>salicornia fruticosa</i>	São Pedro da Aldeia-RJ - Salinas desativadas	Halotolerante extremo
SS161	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Planícies hipersalinas	Halotolerante
SS168	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Planícies hipersalinas e	Halotolerante
SS173	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Planícies hipersalinas	Halotolerante
SS174	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Planícies hipersalinas	Halotolerante
SS175	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Mangue	Halotolerante
SS176	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Planícies hipersalinas	Halotolerante
SS179	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Planícies hipersalinas	Halotolerante
SS197	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Planícies hipersalinas	Halotolerante
SS250	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Planícies hipersalinas	Não halofílico
SS264	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Guaratiba, RJ - Planícies hipersalinas	Não halofílico

Fonte: Elaborado pela Autora.

6.2 Apêndice B – Distribuição das Espécies, Genes de Virulência e Resistência nos Genomas de *Pseudomonas* spp.

Link: <https://supplementary-table-all-disserta-o-nath.tiiny.site>