



UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA

CURSO DE BIOMEDICINA

RUBENS RENATO DE SOUSA CARMO

IANE MAYARA DE LIMA FERREIRA

**RESISTÊNCIA BACTERIANA TRANSPORTADA PELO AR: UMA ABORDAGEM
CLÍNICA**

PARNAÍBA

2022

RUBENS RENATO DE SOUSA CARMO

IANE MAYARA DE LIMA FERREIRA

**RESISTÊNCIA BACTERIANA TRANSPORTADA PELO AR: UMA ABORDAGEM
CLÍNICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, como requisito
obrigatório para obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Rosa Helena Rebouças

PARNAÍBA

2022

RUBENS RENATO DE SOUSA CARMO

IANE MAYARA DE LIMA FERREIRA

**RESISTÊNCIA BACTERIANA TRANSPORTADA PELO AR: UMA ABORDAGEM
CLÍNICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Delta do Parnaíba -
UFDPAr, como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

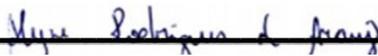
Aprovado em 14 / 10 / 2022

BANCA EXAMINADORA



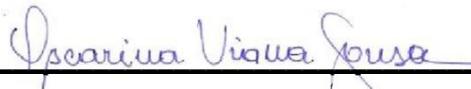
Profa. Dra. Rosa Helena Rebouças

Presidente



Dra. Alyne Rodrigues de Araújo

Membro



Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa

Membro

DEDICATÓRIA

Dedicamos este trabalho aos nossos pais, nossos alicerces.

Aos nossos amigos, pela jornada mais aprazível.

A Deus, por ser nosso refúgio, fortaleza e força.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos nossos pais, **Rubens Américo Raul Bezerra e Rosângela de Sousa Carmo Bezerra; José Ivanaldo Ferreira e Marcia Maria de Lima Ferreira** por sempre se fazerem presentes em nossas vidas. Pelo amor refletido em sacrifícios feitos, gestos e palavras de afeto. Pelas orações rogando proteção e pelos cuidados a cada temporada que passamos longe. Jamais esqueceremos os sorrisos e abraços calorosos a cada chegada, bem como os olhares chorosos e abraços sentidos a cada partida.

Aos nossos irmãos, **Rubens Rafael de Sousa Carmo e Isabelle Mariane de Lima Ferreira** por estarem sempre disponíveis aos nossos chamados e pedidos. Por servirem de exemplo de índole e fraternidade durante todo esse tempo.

Aos demais familiares, obrigado pelas palavras e gestos de carinho e atenção.

Aos amigos que fizemos em Parnaíba, obrigado por servirem de apoio durante a nossa caminhada. Vocês foram fundamentais para o nosso bem estar ao longo dos anos passados longe de nossas famílias: foram nossa família. Podaram os espinhos que às vezes surgiam nos caminhos, adoçaram os dias que seriam amargos, deram cor àqueles que seriam cinzentos. Cada estória que passou ou foi contada na Praça do Amor, no tapete (sofá da Hebe), nos bancos e até mesmo no chão da Universidade, deixou sua marca especial. Foram o tempero necessário para tornar cada lembrança uma saudade.

Aos amigos que deixamos em nossas cidades (**Monsenhor Hipólito-PI e Natal-RN**) e aos que também seguiram cada qual o seu destino. O curso da vida nos separou em distância, mas o sentimento de amizade e consideração permanecem os mesmos. Obrigado por, mesmo longe, estarem sempre por perto para comemorar nossas conquistas e compartilhar das nossas angústias. Ainda que as conversas sejam espaçadas em tempo, o áureo elo que nos une é a certeza de cada um guardar um pouco do outro dentro de si.

À professora **Rosa Helena Rebouças**, por nos dar liberdade criativa no decorrer dos experimentos e processo de escrita. Por nos apoiar e acompanhar a cada etapa de desenvolvimento deste trabalho. Por empenhar seu saber, tempo e esforço para que tivéssemos uma ótima formação em pesquisa.

À outrora Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro Reis Velloso, hoje Universidade Federal do Delta do Parnaíba, obrigado pelo acolhimento, ensino e oportunidades que nos foram ofertadas. Que os nossos esforços em nos tornarmos excelentes

profissionais ecoem para além dos seus muros e que façamos cumprir o seu lema: pensar globalmente, agir localmente.

A **Deus**, em toda Sua onipotência, por nos livrar dos perigos do corpo e da alma. Por ser nosso refúgio e baluarte, em Quem confiamos. Por sempre mostrar o caminho certo, acalmar os corações e colocar as pessoas certas nas horas mais necessárias. Por fazer-se luz e dissipar as trevas.

EPÍGRAFE

“Certifica-te de que és um fator de soma
na vida das pessoas de quem participa”

-Cícero

Resistência bacteriana transportada pelo ar: uma abordagem clínica

Rubens Renato de Sousa Carmo^{1*}, Iane Mayara de Lima Ferreira¹, Rosa Helena Rebouças²

1 Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Departamento de Biomedicina, Parnaíba, Piauí, Brasil

2 Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Departamento de Engenharia de Pesca, Parnaíba, Piauí, Brasil

*rubensrenatobezerra@gmail.com

Resumo

A proliferação da resistência bacteriana é um problema em serviços de saúde. Analisamos a disseminação de resistência bacteriana plasmidial aerotransportada em uma Clínica Escola de Fisioterapia no estado do Piauí, Brasil. Avaliamos a qualidade bacteriológica do ar por sedimentação e traçamos o perfil de resistência bacteriana pela cura plasmidial. Nos pontos analisados: recepção (R), corredor (C), ginásio ortopedia (M) e ginásio neurologia (N), as concentrações bacterianas estavam dentro dos parâmetros de qualidade. Os pontos R e C apresentaram maior quantidade média de UFC/m³, possivelmente devido ao número de pessoas em circulação e ventilação do ambiente. Dos isolados: 96,6% são Gram positivos; 63,3% são cocos, 33,3% bastonetes e 3,3% cocobacilos. Bactérias Gram positivas suportam melhor o estresse do ambiente. Cocos fazem parte da microbiota humana. Em todos os ambientes identificamos cepas resistentes a, pelo menos, um antibiótico. O ponto M apresentou 43% de resistências e N, 44%; os dois maiores. Ampicilina (45%) e sulfazotrim (42%) apresentaram alto índice de resistência. Encontrados sete perfis diferentes de multirresistência (MAR). As cepas N3, N7 e R9 apresentam MAR maior que 0,5. Resistência plasmidial foi identificada em: N3, N4, N7, R1, R5 e R9. R e N tiveram maior quantidade de cepas multirresistentes (42,85%). Seis isolados apresentaram resistência plasmidial e um com resistências potencialmente de completa origem cromossômica. Estudos deste tipo devem ser incentivados para que tenhamos conhecimento sobre o cenário da disseminação dos genes de resistência nessa matriz. Bem como, contribuir para incorporação do grupo bacteriano na legislação nacional.

Palavras-chave: Aeromicrobiota; Multirresistência; Ambiente clínico; Qualidade do ar; Saúde pública.

RESUMO

A proliferação da resistência bacteriana é um problema em serviços de saúde. Analisamos a disseminação de resistência bacteriana plasmidial aerotransportada em uma Clínica Escola de Fisioterapia no estado do Piauí, Brasil. Avaliamos a qualidade bacteriológica do ar por sedimentação e traçamos o perfil de resistência bacteriana pela cura plasmidial. Nos pontos analisados: recepção (R), corredor (C), ginásio ortopedia (M) e ginásio neurologia (N), as concentrações bacterianas estavam dentro dos parâmetros de qualidade. Os pontos R e C apresentaram maior quantidade média de UFC/m³, possivelmente devido ao número de pessoas em circulação e ventilação do ambiente. Dos isolados: 96,6% são Gram positivos; 63,3% são cocos, 33,3% bastonetes e 3,3% cocobacilos. Bactérias Gram positivas suportam melhor o estresse do ambiente. Cocos fazem parte da microbiota humana. Em todos os ambientes identificamos cepas resistentes a, pelo menos, um antibiótico. O ponto M apresentou 43% de resistências e N, 44%; os dois maiores. Ampicilina (45%) e sulfazotrim (42%) apresentaram alto índice de resistência. Encontrados sete perfis diferentes de multirresistência (MAR). As cepas N3, N7 e R9 apresentam MAR maior que 0,5. Resistência plasmidial foi identificada em: N3, N4, N7, R1, R5 e R9. R e N tiveram maior quantidade de cepas multirresistentes (42,85%). Seis isolados apresentaram resistência plasmidial e um com resistências potencialmente de completa origem cromossômica. Estudos deste tipo devem ser incentivados para que tenhamos conhecimento sobre o cenário da disseminação dos genes de resistência nessa matriz. Bem como, contribuir para incorporação do grupo bacteriano na legislação nacional.

Palavras-chave: Aeromicrobiota; Multirresistência; Ambiente clínico; Qualidade do ar; Saúde pública

ABSTRACT

The proliferation of bacterial resistance is a problem in health services. We analyzed the spread of airborne plasmid bacterial resistance in a Clinical School of Physiotherapy in the state of Piauí, Brazil. We evaluated the bacteriological quality of the air by sedimentation and profiled bacterial resistance by plasmid cure. In the analyzed points: reception (R), corridor (C), orthopedics gym (M) and neurology gym (N), bacterial concentrations were within the quality parameters. Points R and C showed the highest average amount of CFU/m³, possibly due to the people in circulation and ventilation. Of the isolates: 96.6% are Gram positive; 63.3% are cocci, 33.3% are rods and 3.3% are coccobacilli. Gram positive bacteria better withstand environmental stress. Cocci are part of the human microbiota. In all environments we identified strains resistant to at least one antibiotic. Point M presented 43% resistance and N, 44%; the two biggest. Ampicillin (45%) and sulfazotrim (42%) showed a high level of resistance. Seven different multiresistance profiles (MAR) were found. Strains N3, N7 and R9 have a MAR greater than 0.5. Plasmid resistance was identified in: N3, N4, N7, R1, R5 and R9. R and N had the highest number of multidrug-resistant strains (42.85%). Six isolates showed plasmid resistance and one with resistances potentially of complete chromosomal origin. Studies of this type should be encouraged so that we have knowledge about the scenario of the dissemination of resistance genes in this matrix. As well as contributing to the incorporation of the bacterial group in the national legislation.

Keywords: Aeromicrobiota; Multi-resistance; Clinical environment; Air quality; Public health.

Sumário

Introdução	11
Materiais e métodos	12
Coleta e processamento das amostras	12
Contagem e expressão dos resultados	13
Caracterização morfotintorial.....	13
Teste de sensibilidade a antimicrobianos	13
Índice de Múltipla Resistência (MAR)	13
Cura de plasmídeo	14
Resultados e Discussão	14
Qualidade bacteriológica do ar.....	14
Caracterização morfotintorial dos isolados	15
Perfil de resistência dos isolados.....	15
Índice de multirresistência	20
Conclusão	21
Referências	21
ANEXO I	25

Resistência bacteriana transportada pelo ar: uma abordagem clínica

Rubens Renato de Sousa Carmo^{1*}, Iane Mayara de Lima Ferreira¹, Rosa Helena Rebouças²

1 Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Departamento de Biomedicina, Parnaíba, Piauí, Brasil

2 Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Departamento de Engenharia de Pesca, Parnaíba, Piauí, Brasil

*rubensrenatobezerra@gmail.com

Resumo

A proliferação da resistência bacteriana é um problema em serviços de saúde. Analisamos a disseminação de resistência bacteriana plasmidial aerotransportada em uma Clínica Escola de Fisioterapia no estado do Piauí, Brasil. Avaliamos a qualidade bacteriológica do ar por sedimentação e traçamos o perfil de resistência bacteriana pela cura plasmidial. Nos pontos analisados: recepção (R), corredor (C), ginásio ortopedia (M) e ginásio neurologia (N), as concentrações bacterianas estavam dentro dos parâmetros de qualidade. Os pontos R e C apresentaram maior quantidade média de UFC/m³, possivelmente devido ao número de pessoas em circulação e ventilação do ambiente. Dos isolados: 96,6% são Gram positivos; 63,3% são cocos, 33,3% bastonetes e 3,3% cocobacilos. Bactérias Gram positivas suportam melhor o estresse do ambiente. Cocos fazem parte da microbiota humana. Em todos os ambientes identificamos cepas resistentes a, pelo menos, um antibiótico. O ponto M apresentou 43% de resistências e N, 44%; os dois maiores. Ampicilina (45%) e sulfazotrim (42%) apresentaram alto índice de resistência. Encontrados sete perfis diferentes de multirresistência (MAR). As cepas N3, N7 e R9 apresentam MAR maior que 0,5. Resistência plasmidial foi identificada em: N3, N4, N7, R1, R5 e R9. R e N tiveram maior quantidade de cepas multirresistentes (42,85%). Seis isolados apresentaram resistência plasmidial e um com resistências potencialmente de completa origem cromossômica. Estudos deste tipo devem ser incentivados para que tenhamos conhecimento sobre o cenário da disseminação dos genes de resistência nessa matriz. Bem como, contribuir para incorporação do grupo bacteriano na legislação nacional.

Palavras-chave: Aeromicrobiota; Multirresistência; Ambiente clínico; Qualidade do ar; Saúde pública.

Introdução

A matriz aérea abriga partículas de natureza variada. Dentre essas partículas, as de caráter microbiano, como vírus, fungos e bactérias, estão suspensas em bioaerossóis pelo ambiente (Ruiz-Gil et al., 2020). Apesar de haver uma quantidade menor de microrganismos dispersos pelo ar, quando comparado aos números presentes em solo e água, esses microrganismos ainda possuem capacidade infectiva que deve ser considerada (Naz et al., 2019).

Dentre as entidades microbianas já citadas, as bactérias, devido seus mecanismos próprios de virulência e resistência, demonstram ser microrganismos de importância, em razão do potencial de causar doenças (Aljamali et al., 2021; Wang et al., 2019).

No momento atual, a resistência bacteriana aos antibióticos tem se apresentado como um dos principais problemas de saúde pública, gerando consequências graves pela falta de opção terapêutica para o tratamento de infecções oriundas de bactérias multirresistentes (ANVISA, 2017; Oliveira et al., 2011). O uso indiscriminado de antibióticos na comunidade, contribui para o desenvolvimento da resistência bacteriana, ocasionando aumento dos custos com tratamentos, além da hospitalização prolongada dos pacientes (Loureiro et al., 2016). Cerca de 700 mil óbitos, anualmente, são ocasionados por infecções decorrentes de bactérias multirresistentes, segundo a Sociedade Brasileira de Microbiologia (SBM, 2017).

A resistência bacteriana pode ser intrínseca, que ocorre de forma natural como parte de evolução bacteriana ou adquirida pela aquisição de genes de resistência por meio de plasmídeos – forma mais comum – ou mutação de genes cromossômicos (Schwarz et al., 2017; Van Duijkeren, 2018).

Os genes que codificam resistência aos antimicrobianos podem estar localizados no cromossomo ou em plasmídeos. O DNA cromossômico é relativamente mais estável, enquanto o DNA plasmidial é facilmente transportado de uma linhagem para outra por conjugação bacteriana, permitindo uma transferência de genes em conjunto, incluindo os de resistência a antimicrobianos (Koneman et al., 2008).

O ar presente no interior de clínicas e prédios em que funcionam serviços de saúde pode carregar muitos agentes infecciosos trazidos por pacientes, funcionários, visitantes ou pelo influxo de ar do exterior (Ashuro et al., 2022; Ben Maamar et al., 2020; Yousefzadeh et al., 2022). Vale destacar que a dinâmica de ambientes desse tipo é de grande rotatividade e fluxo constante de pessoas, fato que colabora para o espalhamento de microrganismos e genes associados à resistência (Daí et al., 2021; Wang et al., 2019).

Pacientes em estado de internação ou imunodeficientes possuem maior risco de desenvolver infecções, em vista da existência de condições favoráveis à proliferação de microrganismos, como o confinamento, aglomeração e más práticas de prevenção a infecções (Ashuro et al., 2022). Assim, a carga bacteriana presente nesses locais deve ser avaliada, bem como o perfil de resistência das estirpes encontradas identificado.

Desta forma, a vigilância epidemiológica de bactérias com fenótipo de multirresistência a antimicrobianos é de extrema importância para monitoramento e desenvolvimento de políticas de saúde pública eficazes no combate a esse problema emergente ao redor do mundo. Neste trabalho, objetivamos analisar a disseminação de resistência bacteriana plasmidial por bioaerossóis presentes na atmosfera de uma unidade de atendimento clínico.

Materiais e métodos

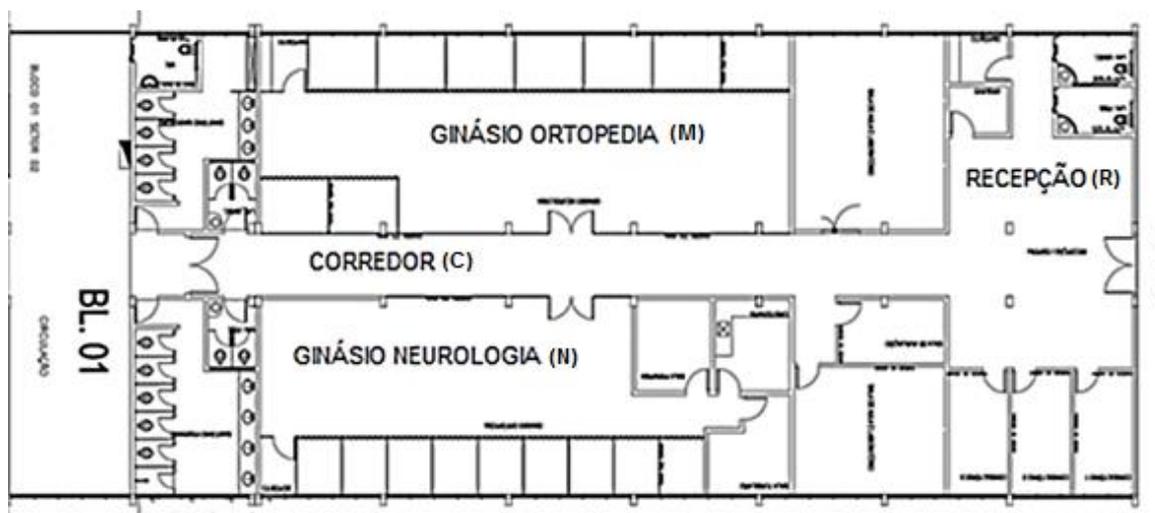
Área de realização do estudo

Foram realizadas coletas de amostras de bioaerossóis presentes em ambientes internos da Clínica Escola de Fisioterapia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr), na cidade de Parnaíba, estado do Piauí, Brasil. Foram escolhidos pontos de coleta nas áreas internas do prédio e o número de placas, por sala, foi definido de acordo com a Resolução nº 9 de 16 de janeiro de 2016 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2016), que determina os Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. A Resolução estabelece que até 1.000 m² uma placa de coleta deve ser utilizada. Devido a isso, utilizou-se uma placa e sua duplicata em cada sala, localizadas a altura de 1,5 m do chão, no centro do recinto.

Foram escolhidos os seguintes pontos de coleta nas áreas internas do prédio: recepção (R), ginásio ortopedia (M), ginásio neurologia (N) e corredor (C), conforme indicado na figura 1. As coletas foram realizadas nos dias 12 e 25 de abril de 2022, no turno da tarde. Nos ambientes estavam presentes pacientes, alunos, funcionários e preceptores realizando suas respectivas atividades e atendimentos.

Durante todo o tempo, a Clínica Escola de Fisioterapia esteve em funcionamento com público reduzido a 30% da capacidade total e uso de máscara como medida sanitária de prevenção e controle dos casos de COVID-19.

Fig. 1 Planta baixa da Clínica Escola de Fisioterapia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba fornecida pela Divisão Patrimonial da instituição, em 2022



Coleta e processamento das amostras

Os meios de cultura utilizados para coleta das amostras de partículas biológicas em suspensão no ar foram o *Plate Count Agar* (PCA) e MacConkey acrescidos de 0,8% de Nistatina (fungicida) para favorecer somente o crescimento bacteriano.

Foi utilizada a técnica de sedimentação em placas para as coletas de amostras de bioaerossóis. Esta técnica consiste na abertura e exposição da placa de *Petri*, por 30 minutos, contendo meio de cultura para que as partículas em suspensão no ar sedimentem na superfície do ágar (Pasquarella et al., 2000; Pasquarella et al., 2007).

Finalizado o tempo de exposição, as placas foram fechadas e levadas para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba, onde foram incubadas em estufa a 35°C/48 horas. Contagem e expressão dos resultados

Após o período de incubação, foram realizadas as contagens bacterianas. A partir do número de colônias que cresceram na placa de coleta e sua duplicata foi calculada a média de cada ponto. Esse resultado foi utilizado para calcular a unidade formadora de colônia por metro cúbico (UFC/m³) de ar.

Para obter os resultados das contagens em UFC/m³ foi utilizada a Equação 1 para transformar a unidade de área da placa em uma unidade de volume (Friberg et al, 1999a; Friberg et al., 1999b).

Equação 1 – Cálculo do número de UFC/m³ de ar pela técnica de sedimentação em placa.

$$n^{\circ} \text{ UFC/m}^3 = (n^{\circ} \text{ de UFC da caixa} / \text{área da caixa (m}^2)) \times 1/23 \quad (1)$$

Como “área da caixa” foi utilizada a área da placa de Petri, valor obtido pelo cálculo da área do círculo, que é o valor de π (Pi) multiplicado pelo quadrado do raio da placa. Para uma placa de diâmetro igual a 9 cm, sua área é aproximadamente 64 cm² ou 0,0064m².

A razão 23:1 representa o número de células na superfície pelo número de células no ar (SAR) para utilização de técnicas com sedimentação espontânea (Morais et al., 2010).

Caracterização morfotintorial

As bactérias isoladas foram caracterizadas quanto à parede e morfologia pela técnica de coloração de Gram e microscopia (Tortora et al., 2012).

Teste de sensibilidade a antimicrobianos

O antibiograma foi realizado de acordo com as normas estabelecidas pelo então *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, NCCLS (2003), - atualmente o *Clinical and Laboratory Standards Institute*, CLSI - em que as culturas puras foram semeadas em ágar nutriente a 35°C/24h. O inóculo foi ajustado de acordo com a escala de turbidez do tubo 0,5 na escala de McFarland e a absorbância aferida em espectrofotômetro (Micronal B542) a um comprimento de onda de 625nm. A partir da suspensão bacteriana, preparada anteriormente, foram inoculadas placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton com um *swab* de algodão estéril.

Em seguida, os discos de antibióticos foram depositados na superfície do ágar previamente inoculado. As placas foram invertidas e incubadas em estufa por 35°C/24h. Após o período de incubação foi verificada a formação e medição de halos. Como controle de qualidade para o teste de disco-difusão, foi utilizada a cepa padrão Gram negativa da *American Type Culture Collection* de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e uma Gram positiva, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Foi utilizado mais de um representante por classe de antibiótico e de diferentes gerações dentro de uma mesma classe. Os antibióticos utilizados foram imipenem (10 mcg) IPM, ciprofloxacino (5 mcg) CIP, gentamicina (30 mcg) GEN, ampicilina (10 mcg) AMP, sulfazotrim (25 mcg) SUT, ceftriaxona (30 mcg) CRO, amicacina (30 mcg) AMI, cefalotina (30 mcg) CFL e vancomicina (30 mcg) VAN.

Os diâmetros formados pelos halos de inibição foram mensurados em mm e comparados com os apresentados pela tabela de referência da Laborclin®, fabricante dos discos. A caracterização de susceptibilidade a antimicrobianos dos isolados foi dividida em: susceptível, intermediário e resistente.

Índice de Múltipla Resistência (MAR)

O índice MAR (*Multiple Antibiotic Resistance* – MAR Index) descrito por Krumperman (1983), é uma técnica usada para avaliar se há resistência múltipla da estirpe isolada. O índice é calculado dividindo o número de antimicrobianos ao qual a bactéria desenvolve resistência (a), pelo número de agentes antimicrobianos testados para a mesma (b), (Lima et al., 2006) conforme demonstra a Equação 2:

Equação 2 – Índice de Múltipla Resistência

$$\text{MAR} = \frac{(a)\text{Resistências da bactéria}}{(b)\text{Agentes antimicrobianos testados}} \quad (2)$$

Valores do índice MAR maiores que 0,2 indicam resistência bacteriana múltipla.

Cura de plasmídeo

A presença ou ausência de plasmídios-R foi testada para as cepas que apresentaram perfil de multirresistência aos antimicrobianos testados. Como agente de cura foi utilizado o *corante Acridine Orange* (AO) na concentração de 200 µg/mL de acordo com Molina-Aja et al. (2002). As cepas multirresistentes foram crescidas em *Tryptone Soya Broth* (TSB), incubadas por 35°C/24h em estufa bacteriológica. Após esse período, alíquotas de 200 µL foram adicionadas aos tubos contendo caldo Luria Bertani (LB) (controle) e aos tubos contendo caldo LB + AO que foram logo em seguida incubados a 35°C/24h. A partir do crescimento dos caldos LB (controle de crescimento) e caldo LB + AO (teste) foi realizado novo antibiograma para verificar se houve alteração no perfil de resistência aos antibióticos previamente testados.

Análise de dados

Os resultados foram plotados usando o *software* estatístico *Graphpad prism* versão 6 para construção dos gráficos de barra.

Resultados e Discussão

Qualidade bacteriológica do ar

Observamos crescimento de colônias nas placas de Petri contendo meio PCA, no entanto, não houve crescimento bacteriano no ágar MacConkey que é específico para enterobactérias. As colônias que cresceram foram quantificadas e suas contagens estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 Média do número de UFC/m³ nos diferentes ambientes em uma clínica escola de fisioterapia da UFDPAr, Parnaíba -PI

	Coleta 1	Coleta 2
Local	UFC/m ³	UFC/m ³
R	78.12	47.55
C	33.96	302.30
N	40.76	27.17
M	40.76	50.95

R: sala de recepção; C: corredor; M: ginásio de ortopedia; N: ginásio de neurologia.

O Brasil não disponibiliza regulamentação para determinação dos parâmetros de controle da qualidade bacteriológica do ar interno de edificações. Desta forma, nossos resultados foram confrontados com o estabelecido em Portugal por meio da Nota Técnica NT-SCE-02 que determina a metodologia de auditoria à qualidade do ar interior.

De acordo com a NT-SCE-02 Adene (2009) a quantificação de bactérias nos diferentes ambientes da Clínica Escola de Fisioterapia se encontra abaixo das concentrações máximas de referência (500 UFC/m³) para a presença de bactérias na matriz aérea.

A regulamentação nacional desenvolvida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece padrões para qualidade do ar interno levando em consideração a concentração máxima recomendada (≤ 750 UFC/m³) para presença de fungos (Brasil, 2003).

Os pontos que apresentaram maior quantidade média de UFC/m³ foram a recepção (R) e o corredor (C). Esses locais apresentaram um maior trânsito e quantidade de pessoas ao mesmo tempo. Ao contrário dos ginásios de ortopedia (M) e neurologia (N), onde os atendimentos foram feitos de dois a três pacientes por vez. Além disso, no dia em que a segunda coleta foi feita, o número de atendimentos foi superior aos realizados no dia da primeira coleta. Destaca-se também que a flutuação da concentração de UFC/m³ em cada ambiente é influenciada pela heterogeneidade de rotatividade ocorrida nos referidos locais (Jalili et al., 2021).

Vale destacar que as coletas foram realizadas durante o tempo em que a Clínica Escola esteve em funcionamento com público reduzido a 30% da capacidade total e uso de máscara, como medida sanitária de enfrentamento à COVID-19. Segundo Valedeyni et al., (2016), fatores como o quantitativo de pessoas, ventilação, aspectos de saúde do prédio, presença de acompanhantes e funcionários podem causar um aumento na contagem de bactérias em um ambiente.

Caracterização morfotintorial dos isolados

Foram selecionadas 15 colônias de cada coleta, totalizando 30 colônias, e suas características morfotintoriais foram observadas. Como critério de seleção, isolamos colônias com diferentes características macroscópicas. Contabilizando as quantidades de colônias selecionadas nas duas coletadas, isolamos: nove na recepção (R), 12 no corredor (C), sete no ginásio de ortopedia (M) e sete no ginásio de neurologia (N).

Em sua maioria, as estirpes bacterianas encontradas são Gram positivas (96,6%). Quanto à morfologia, 63,3% são cocos, 33,3% bastonetes e 3,3% cocobacilos. Um total de 3,3% dos isolados são Gram negativos.

Bactérias Gram positivas possuem uma camada espessa de proteoglicanas que envolve toda a membrana bacteriana, conferindo proteção contra o ambiente hostil em que estão presentes (Silhavy et al., 2010). Ao passo que bactérias Gram negativas possuem uma segunda membrana externa. Esta, por sua vez, confere resistência a vários antimicrobianos, como β -lactâmicos, quinolonas e colistinas (Exner et al., 2017).

O fato de haver uma segunda membrana em bactérias Gram negativas faz com que o agente antimicrobiano transpasse a membrana externa para ter acesso aos alvos de atuação. A exemplo, fármacos de caráter hidrofóbico que podem atravessar via difusão; já os hidrofílicos - β -lactâmicos - passam com auxílio das porinas. Alguns antibióticos podem até mesmo não ter a capacidade de passar por essa membrana, como a vancomicina, em razão da conformação estrutural que possuem, o que os impede de usar esse meio de entrada. Desta forma, por possuírem uma membrana seletiva e que pode sofrer mudanças de conformação das proteínas de entrada, bactérias Gram negativas são mais resistentes a agentes antimicrobianos que as Gram positivas (Exner et al., 2017).

Com relação ao tipo de parede celular das bactérias isoladas de ambiente hospitalar, nossos achados corroboram com outras pesquisas que realizaram a coleta de bioaerossóis.

Bactérias Gram positivas, pertencentes aos gêneros *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp. e *Bacillus* sp. foram isolados da matriz aérea em dois hospitais situados nas proximidades do distrito de Rawalpindi, Paquistão. Quanto à morfologia destes isolados, 80% foram cocos Gram positivos e 11% bastonetes Gram positivos (Hassan & Zeeshan, 2022).

Yousefzadeh et al., (2022) ao analisarem a microbiota de um hospital universitário no Irã, foi visto que cerca de 50% das bactérias isoladas foram do gênero *Staphylococcus* spp. Foi encontrado também *Bacillus* sp. e, em menor número, *Pseudomonas* sp. e *E. coli*, ambas Gram negativas.

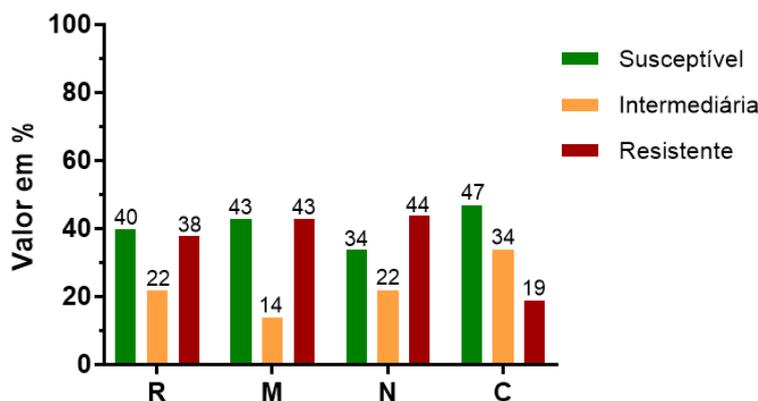
Em outro estudo, ao avaliar a carga bacteriana no ar interno do Hospital Universitário de Dilla, os autores encontraram um total de 71% de bactérias Gram positivas, sendo essa a população mais comum em todos os ambientes internos (Ashuro et al., 2022).

Segundo Tang (2009) e Madigan et al., (2010) as bactérias mais aptas à sobrevivência na dispersão pelo ar são as Gram positivas. A abundância de cocos Gram positivos pode ser atribuída também à menor susceptibilidade dessas bactérias a estresses de origem ambiental (Borriello et al., 2005; Sudharsanam et al., 2012). Destaca-se que bactérias com essa característica morfotintorial são advindas da presença humana, pois a colonização desses microrganismos é comum na microbiota do ser humano (Ayliffe et al., 1982).

Perfil de resistência dos isolados

Os resultados provenientes do teste de susceptibilidade foram agrupados de acordo com a área de coleta e por antibiótico conforme mostrado nas Figuras 2 e 3.

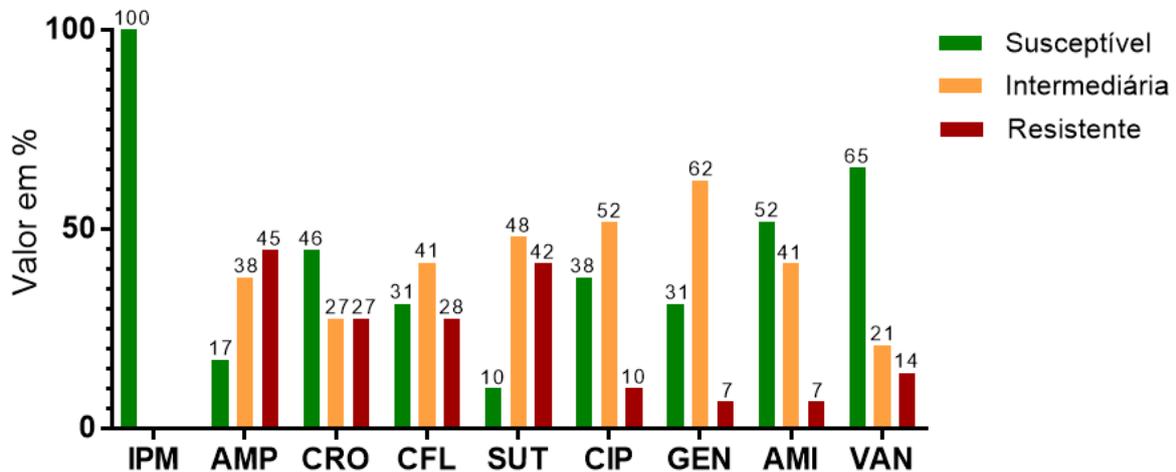
Fig. 2 Percentual da susceptibilidade dos isolados bacterianos divididos por local de coleta dentro das dependências de uma clínica escola de fisioterapia da UFDPAr, Parnaíba - PI



R: sala de recepção; C: corredor; M: ginásio de ortopedia; N: ginásio de neurologia.

Foram observadas cepas resistentes a pelo menos um antibiótico em todos os ambientes amostrados. No corredor (C), o percentual de susceptibilidade a todos os antibióticos testados foi de 47%, com 34% intermediárias e 19% de resistência. No ginásio de ortopedia (M), foram encontradas 43% de susceptibilidade, 14% intermediárias e 43% resistências. No ambiente do ginásio de neurologia (N), encontramos 34% de susceptibilidade, 22% intermediárias e 44% resistências. Na sala de recepção (R), foram notadas 40% de susceptibilidade, 22% intermediárias e 38% de resistências.

Fig. 3 Resultados do perfil de resistência aos antibióticos testados contra os isolados bacterianos em uma clínica escola de fisioterapia da UFDPAr, Parnaíba - PI



IPM: Imipenem; AMP: Ampicilina; CRO: Ceftriaxona; CFL: Cefalotina; CIP: Ciprofloxacina; SUT: Sulfazotrim; GEN: Gentamicina; AMI: Amicacina; VAN: Vancomicina.

As características fenotípicas, como parede, morfologia e perfil de resistência dos isolados são apresentadas na tabela 2 e tabela 3.

Tabela 2 Características morfológicas e perfis de resistência antimicrobiana das estirpes bacterianas isoladas de bioerossóis coletados em ambientes em uma clínica escola de fisioterapia da UFDP, Parnaíba - PI

Cepa	Parede	Morfologia	Perfil de resistência
R1	G+	Bastonete	AMP-SUT
R2	G+	Cocos	S*
R3	G+	Cocos	S*
R4	G+	Cocos	S*
R5	G+	Bastonete	AMP-SUT-CRO-CFL
R7	G+	Bastonete	S*
R8	G+	Cocos	S*
M1	G+	Cocos	S*
M2	G+	Cocos	AMP-CRO-AMI-CFL
M5	G+	Cocos	S*
M6	G+	Cocos	S*
M7	G+	Cocos	S*
N1	G+	Cocos	S*
N2	G+	Cocos	S*
N3	G+	Cocobacilo	AMP-SUT-CRO-CFL-VAN
N4	G+	Cocos	AMP-CRO
N5	G+	Cocos	S*
N6	G+	Cocos	S*
N7	G -	Bastonete	CIP-GEN-AMP-SUT-CRO-CFL-VAN
C1	G+	Cocos	S*
C4	G+	Cocos	S*
C5	G+	Cocos	SUT-CFL-VAN
C6	G+	Bastonete	S*
C7	G+	Bastonete	S*
C8	G+	Bastonete	CIP-AMP
C9	G+	Cocos	S*
C10	G+	Bastonete	S*
C11	G+	Bastonete	S*
C12	G+	Bastonete	S*

G+ = Gram positivo; G - = Gram negativo; * = susceptível a todos os antibióticos testados.

SUT: Sulfazotrim; CRO: Ceftriaxona; AMP: Ampicilina; CIP: Ciprofloxacina; GEN: Gentamicina; CFL: Cefalotina; AMI: Amicacina; VAN: Vancomicina.

Tabela 3 Perfil de resistência aos antimicrobianos testados nos isolados bacterianos coletados em ambientes em uma clínica escola de fisioterapia da UFDFar, Parnaíba – PI

Cepa	IPM	AMP	CRO	CFL	SUT	CIP	GEN	AMI	VAN
R1	S	R	I	I	R	S	I	S	S
R3	S	I	S	I	S	I	I	I	S
R4	S	I	I	S	I	I	S	S	S
R5	S	R	R	R	R	I	I	I	I
R7	S	S	S	S	I	S	I	S	S
R8	S	I	I	I	I	S	I	I	I
R9	S	R	R	R	R	R	R	R	R
M1	S	I	R	I	R	I	I	I	S
M2	S	R	R	R	I	I	S	R	S
M5	S	I	S	S	R	S	I	I	S
M6	S	I	I	I	I	I	I	S	I
M7	S	S	S	S	S	I	I	S	S
N1	S	I	S	S	I	S	S	S	S
N2	S	I	S	S	I	I	S	S	S
N3	S	R	R	R	R	S	I	I	R
N4	S	R	R	I	I	S	I	I	I
N5	S	S	S	I	I	S	S	S	S
N6	S	I	S	I	I	I	I	I	S
N7	S	R	R	R	R	R	R	I	R
C1	S	I	S	S	S	S	S	S	S
C4	S	R	R	I	R	I	S	S	S
C5	S	R	S	R	R	S	S	S	R
C6	S	S	S	S	R	I	I	I	S
C7	S	I	I	I	I	I	I	S	S
C8	S	R	I	I	I	R	I	I	I
C9	S	R	I	R	R	I	I	S	S
C10	S	R	S	I	I	I	S	I	I
C11	S	R	I	R	R	I	I	S	S
C12	S	S	S	S	I	S	I	S	S

IPM: Imipenem; AMP: Ampicilina; CRO: Ceftriaxona; CFL: Cefalotina; SUT: Sulfazotrim; CIP: Ciprofloxacina; GEN: Gentamicina; AMI: Amicacina; VAN: Vancomicina. R: resistente; I: intermediário; S: susceptível.

Os β -lactâmicos são uma grande classe de antibióticos que inibem a síntese da parede bacteriana. São divididos em outras quatro subclasses que diferem estruturalmente entre si: as penicilinas, as cefalosporinas, os carbapenêmicos e os monobactâmicos (Gómez et al., 2015). Dos representantes utilizados, todas as cepas foram susceptíveis a IPM; em contrapartida, 45% das cepas foram resistentes à AMP, ao passo que 17% foram susceptíveis e 38% com resistência intermediária a este fármaco. Um percentual de 46% das cepas foi susceptível a CRO e 27% foram resistentes e intermediárias, respectivamente. Com relação ao fármaco CFL, encontramos 31% das cepas susceptíveis, 41% intermediárias e 28% resistentes.

Solomon et al., (2017), ao avaliarem o perfil de resistência de bactérias transportadas pelo ar de um Hospital Universitário de referência no sul da Etiópia, constataram que do total de cepas (n=216), 19,9% dessas apresentaram resistência contra CRO. Quanto ao IPM, apenas 5,3% de todas as cepas apresentaram alguma resistência, o mesmo que 24% de Gram negativas isoladas, já que apenas as estirpes com essas características morfológicas foram susceptíveis ao IPM. Nenhum Gram positivo apresentou resistência ao IPM, tal qual encontramos neste trabalho.

Em um estudo conduzido na Universidade de Gana, para identificar o perfil de resistência a antimicrobianos, os autores concluíram que a ampicilina (AMP) não apresentou efetividade contra os isolados

testados, contabilizando resistência em 100% das cepas (Abiola et al., 2019). Semelhantemente, em um estudo mais recente realizado em um hospital da Malásia, foi observada alta resistência à AMP em: *S. aureus*, *Bacillus* spp., *Clostridium* spp. (100%), *Micrococcus* spp. (95.2%) e *Streptococcus* spp. (75%) (Tamsi et al., 2022).

O amplo uso dos β -lactâmicos fez com que os mecanismos de resistência fossem disseminados. A exemplo, a modificação do alvo por mutação ou expressão de *Penicillin-Binding Proteins* (PBPs) alternativos, permeabilidade celular reduzida pela regulação de porinas, expressão acentuada de sistemas de efluxo e produção de β -lactamases (Tooke et al., 2019).

As sulfonamidas são antibióticos sintéticos de caráter bacteriostático, atuando como inibidor competitivo da conversão do ácido p-aminobenzóico em desidropteroato, fator que a bactéria necessita para síntese de ácido fólico, purina e de DNA. Geralmente, o sulfametoxazol é utilizado associado com uma diamino-pirimidina, o trimetoprim, agindo de maneira sinérgica em diferentes pontos do processo de síntese do ácido tetra-hidrofolico (folínico), utilizado na síntese de ácidos nucleicos. Ao passo que o sulfametoxazol atua em um ponto intermediário da reação, o trimetoprim inibe a formação do metabólito ativo ao término do processo (ANVISA, 2007).

O sulfazotrim (SUT) demonstrou sofrer grande impacto com a resistência bacteriana. Constatou-se que o fármaco em questão foi o segundo maior em grau de resistência, contando com 42% das cepas, ao passo que apenas 10% foram susceptíveis.

Um estudo realizado para determinar a composição bacteriana e os perfis de suscetibilidade a antibióticos de um instituto de pesquisa da Universidade de Gana mostrou 76,7% e 100% de resistência a sulfonamidas em cocos Gram positivos e bacilos Gram positivos, respectivamente (Abiola et al., 2018).

A resistência às sulfas pode ocorrer por mutação, levando à produção aumentada de ácido para-aminobenzóico ou à síntese de diidropteróico sintetase que apresentam pouca afinidade pelo antimicrobiano. Plasmídeos podem codificar resistência proporcionada por enzimas com pouca afinidade ou determinar diminuição de permeabilidade da bactéria. A resistência ao trimetoprim pode ocorrer por alteração da permeabilidade celular, por perda da capacidade da bactéria de ligação à droga por modificação na enzima diidrofalato redutase (ANVISA, 2007; Tortora et al., 2012).

Os antimicrobianos quinolônicos são moléculas sintéticas e constituem a classe mais efetiva de inibidores da topoisomerase, bem como atuam inibindo a atividade DNA girase (Correia et al., 2017). Podem tratar infecções por bactérias Gram positivas e Gram negativas. Atualmente, por causa do aumento da resistência e de sua toxicidade, a utilização deste fármaco tem chamado maior atenção (Bush et al., 2020). O representante das quinolonas utilizado foi CIP. Um total de 38% das cepas demonstrou serem susceptíveis, 52% intermediárias e 10% resistentes.

Em um estudo foi feita a análise do perfil de resistência de cepas isoladas do ar de três tipos de locais urbanos (beira de estrada, industrial e residencial) da cidade de Acra, Gana. Os autores viram que 8,3% das cepas isoladas foram resistentes ao ciprofloxacino (CIP) (Azaglo et al., 2021).

A resistência às quinolonas se dá de forma multifatorial, podendo ser por combinações de mutações genéticas no sítio-alvo, com diminuição da afinidade pela ligação ao fármaco à enzima em questão, redução da concentração intracelular de drogas, da captação ou aumento do efluxo, bem como, genes plasmidiais que produzem proteínas protetoras de alvo e enzimas de modificação de drogas (Bush et al., 2020).

Os aminoglicosídeos são uma classe de antibióticos usados para tratamento de infecções bacterianas graves. Seu mecanismo de ação compreende a ligação à fração 30S dos ribossomos, precisamente no sítio A que é a região de decodificação dessa subunidade ribossômica, inibindo a síntese proteica ou produzindo proteínas defeituosas (Wargo & Edwards, 2014). Os representantes GEN e AMI demonstraram a mesma taxa de resistência de 7% ao serem utilizados contra as estirpes isoladas. Já as susceptibilidades foram, respectivamente, de 31% e 52%, demonstrando que GEN, um antibiótico de uso restrito hospitalar, demonstrou ter certa transição de susceptível a resistente, pois apresenta alto valor intermediário (62%) o que deve receber atenção.

Em mesmo estudo de Abiola et al., (2019), na Universidade de Gana, foi constatado que a gentamicina (GEN) apresentou grande efetividade contra os isolados testados. Foi visto que esse agente foi eficaz contra: 97% dos cocos Gram positivos, 95,5% de bastonetes Gram positivos, 66,7% de bastonetes Gram negativos e 97% de *Staphylococcus* spp.

Segundo estudo de caracterização epidemiológica, fenotípica e estrutural do gene de resistência a aminoglicosídeos *Aac(3)-IV* feito por Plattner et al., (2020), aminoglicosídeos como amicacina, arbecacina e plazomicina apresentaram sucesso com mecanismos de resistência que afetaram a eficiência da gentamicina e da tobramicina. Porém, pelo menos alguns dos mecanismos de resistência clinicamente relevantes, como aminoglicosídeo acetiltransferases e as 16S-rRNA metiltransferases, afetou a eficácia dos três antimicrobianos.

A resistência aos aminoglicosídeos pode ocorrer com base na modificação enzimática do fármaco, mediada por aminoglicosídeos acetiltransferases, nucleotidiltransferases ou fosfotransferases; diminuição da permeabilidade; metilação do sítio alvo do rRNA ou superexpressão de proteínas da bomba de efluxo (Zhang et al., 2020).

Os glicopeptídeos são um grupo de antibióticos de peptídeos não ribossomais cíclicos ou policíclicos glicosilados que inibem a síntese da parede celular bacteriana. Agem para prevenir a reticulação da camada de peptidoglicano da parede celular bacteriana, ligando-se ao terminal d-alanil-d-alanina do monômero lipídico II. A atividade da vancomicina é determinada pela atração com os substratos precursores de peptidoglicano (Zeng et al., 2016).

Quanto à VAN, 65% dos isolados demonstraram serem susceptíveis e 14% resistentes. Valores variáveis, mas não muito distantes desses números foram relatados em literatura. Das estirpes bacterianas isoladas, a C5, um coco Gram positivo, demonstrou ser resistente a esse fármaco.

Em mesmo estudo já citado de Solomon et al., (2017), apenas 7,5% dos *Enterococcus* spp demonstraram resistência à VAN, correspondendo, em contagem total, a apenas 1,32%. Não sendo visto, portanto, resistência em cepas de outros gêneros encontrados.

Em amostras de ar poluído em Pequim, foi visto que 24,66% dos aerossóis bacterianos cultiváveis foram resistentes à vancomicina (Wang et al., 2022).

A vancomicina e outros glicopeptídeos, devido ao mecanismo de ação, são drogas de última escolha para o tratamento de infecções graves causadas por bactérias Gram positivas (Stogios & Savchenko, 2020). As primeiras cepas bacterianas resistentes a esse fármaco foram descritas ao final da década de 1980. Desde então, a proliferação de resistências tem crescido de forma constante (Mühlberg et al., 2020).

O principal mecanismo de resistência das bactérias à vancomicina é codificado pelo gene *van*, onde a expressão deste gene promove a alteração do complexo D-alanil-D-alanina, substituindo o aminoácido terminal D-alanina por D-lactato. Isso faz com que a afinidade da vancomicina com a camada de peptidoglicano resulte em uma diminuição de 1000 vezes na ligação. Consequentemente, os precursores modificados não são reconhecidos pela vancomicina e outros antibióticos do grupo. Bactérias Gram negativas são resistentes à vancomicina, devido a membrana externa impedir que essas moléculas complexas adentrem a célula e liguem-se aos seus alvos (Zeng et al., 2016). Outro mecanismo de resistência pode ser o espessamento da parede bacteriana pelo aumento da produção de proteoglicanos ou redução das ligações cruzadas, desta forma mais resíduos D-Ala-D-Ala estarão disponíveis para vancomicina, que vai se ligando às camadas mais externas, sem conseguir atingir os precursores na membrana plasmática (Bessa & Laranjeira, 2021).

Índice de multirresistência

Após a realização da cura plasmidial, os resultados dos antibiogramas feitos antes e após a aplicação dessa técnica foram comparados. A tabela 4 expressa o resultado da cura plasmidial e o índice de multirresistência (MAR).

Tabela 4 Resultados da cura plasmidial e índice MAR em cepas multirresistentes isoladas dos bioaerossóis de ambiente em uma clínica escola da UFDPAr, Parnaíba (PI)

Cepa	Resistência a antibióticos	MAR	Resistência após cura
R1	AMP-SUT	0,2	AMP
R5	AMP-SUT-CRO-CFL	0,4	SUT
R9	CIP-GEN-AMP-SUT-CRO-AMI-CFL-VAN	0,8	AMP-SUT-CRO-CFL-VAN
C5	SUT-CFL-VAN	0,3	SUT-CFL-VAN
N3	AMP-SUT-CRO-CFL-VAN	0,5	AMP-CFL-VAN
N4	AMP-CRO	0,2	-
N7	CIP-GEN-AMP-SUT-CRO-CFL-VAN	0,7	AMP-SUT-CRO-CFL-VAN

SUT: Sulfazotrim; CRO: Ceftriaxona; AMP: Ampicilina; CIP: Ciprofloxacina; GEN: Gentamicina; CFL: Cefalotina; AMI: Amicacina; VAN: Vancomicina.

Observamos, em nossos achados, sete (07) perfis distintos de múltipla resistência. Os índices de MAR que variaram entre 0,2 a 0,8 são preocupantes. Os isolados N3, N7 e R9 se destacam por apresentar índice MAR > 0,5.

Solomon et al., (2017), ao avaliarem o perfil de resistência de bactérias transportadas pelo ar de um Hospital Universitário de referência no sul da Etiópia, viram que a resistência aos antimicrobianos testados variou de 7,5 a 87,5% em cepas Gram positivas. Já em Gram negativas, a variação foi de 15,4 a 87%.

Das estirpes que apresentaram multirresistência, 85,71% dessas, após cura plasmidial, perderam algum fenótipo de resistência. Resistência plasmidial foi identificada para as cepas N3 (SUT e CRO), N4 (AMP e CRO), N7 (CIP e GEN), R1 (SUT), R5 (AMP, CRO e CFL) e R9 (CIP, GEN e AMI).

Um total de 14,29% das cepas multirresistentes mantiveram seus respectivos MARs inalterados. Esse fato indica que a resistência em questão tem origem potencialmente cromossômica. Dentre os ambientes internos, a recepção (R) e o ginásio de neurologia (N) apresentam maior frequência de cepas multirresistentes, 42,85% cada.

Seis isolados apresentaram alguma resistência mediada por plasmídeo e apenas uma cepa com resistências de completa origem potencialmente cromossômica (C5). Apenas uma cepa apresentou resistência completamente plasmidial (N4). Vale destacar que a resistência bacteriana mediada por plasmídeo, vista em diferentes antibióticos, apresenta dificuldade para o tratamento médico e maior facilidade de proliferação entre bactérias e espalhamento pelo ambiente (Ojo et al., 2014; Dimitriu, 2022).

A ampla aplicação de antibióticos na clínica criou um ambiente propício onde a recombinação sítio-específica, mediada por integrons em plasmídios de resistência, levou à rápida aquisição de genes de resistência e à proliferação desses tipos de plasmídios (Mazel, 2006). Os integrons exercem importância no desenvolvimento de genes de resistência a antibióticos e na transferência horizontal de genes entre bactérias (Yan et al., 2022).

Embora as drogas antimicrobianas possuam um papel importante na melhoria da expectativa de vida do ser humano, a utilização desregrada e de forma ampla fez com que a resistência bacteriana fosse sendo refinada ao longo do tempo, em razão da pressão seletiva sofrida pelas bactérias. Com isso, torna-se mais frequente haver perda de eficácia no tratamento a infecções, aumentando de modo significativo a ocorrência de doenças graves e morte (WHO, 2022).

Conclusão

A proliferação de genes de resistência bacteriana é um problema crescente, principalmente em ambientes clínicos e hospitalares, devido ao público frequente. Ao avaliar a qualidade bacteriológica do ar da Clínica Escola de Fisioterapia, constatamos que em todos os quatro pontos analisados (C, M, N e R) as concentrações de bactérias em UFC/m³ estavam dentro dos parâmetros de qualidade utilizados. Os pontos R e C apresentaram maior quantidade média de UFC/m³ dentre os analisados. Infere-se que isso tenha ocorrido devido a influência de fatores, como o número de pessoas em circulação, ventilação do ambiente e aspectos de saúde do prédio.

Ao analisar as características morfológicas dos isolados, foi possível observar maior quantidade de cepas cocos Gram positivos. Resultado esperado, visto que bactérias Gram positivas suportam melhor o estresse do ambiente. Cocos estão, geralmente, associados à presença humana, pois fazem parte da microbiota corporal do ser humano.

No que se refere ao perfil de resistência dos isolados, em todos os ambientes foram identificadas cepas resistentes a, pelo menos, um antibiótico. O ponto M e N foram os locais que apresentaram mais resistência.

As cepas exibiram maiores taxas de resistência contra os fármacos AMP (45%) e SUT (42%) ao passo que apenas 17% e 10%, respectivamente, foram susceptíveis.

Em relação ao índice de MAR das estirpes avaliadas, foram encontrados sete perfis de múltipla resistência, ocorrendo variação de 0,2 a 0,8. Onde as cepas N3, N7 e R9 se destacaram com maior índice de MAR. Com a cura plasmidial, foi possível caracterizar as cepas que apresentavam resistência plasmidial, cromossômica ou ambas. Cepas como N3, N4, N7, R1, R5 e R9 foram identificadas por apresentarem resistência plasmidial, enquanto cepas que mantiveram seus índices inalterados, após a cura, foram identificadas por apresentarem resistência de origem potencialmente cromossômica.

Este estudo é de grande importância, pois ele mostra o nível de contaminação bacteriana e os perfis de resistência a antibióticos no meio clínico. Estudos que visem avaliar a microbiota bacteriana aérea, de ambientes internos, devem ser incentivados para que tenhamos conhecimento sobre o cenário real da disseminação dos genes de resistência nessa matriz e contribuir para a implementação da incorporação do grupo bacteriano na legislação nacional que controla microrganismos em aeromicrobiota.

Referências

- Abiola, I., Abass, A., Duodu, S., & Mosi, L. (2018). Characterization of culturable airborne bacteria and antibiotic susceptibility profiles of indoor and immediate-outdoor environments of a research institute in Ghana. *AAS open research*, 1. <https://doi.org/10.12688/aasopenres.12863.2>
- ADENE. (2009). *Nota técnica NT-SCE-02: Metodologia para auditorias periódicas de QAI em edifícios de serviços existentes no âmbito do RSECE*. Retrieved September 8, 2022, from <http://www.enviro.pt/index.php/documentos?task=document.viewdoc&id=14>
- Aljamali, N. M., Al-zubaidy, Z. H., & Enad, A. H. (2021). Bacterial Infection and Common Bacterial Diseases: A Review. *Trends in Pharmaceuticals and Nanotechnology*, 3(2), 13-22.

- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2007). *Antimicrobianos - bases teóricas e usos clínicos*. Retrieved September 13, 2022, from https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo1/sulfonamidas2.htm
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2007). *Módulo 3 Resistência Microbiana – mecanismo e impacto clínico*.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2017). *Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde*.
- Ashuro, Z., Diriba, K., Afework, A., Husen Washo, G., Shiferaw Areba, A., G/meskel Kanno, G., ... & Tesfu, M. (2022). Assessment of Microbiological Quality of Indoor Air at Different Hospital Sites of Dilla University: A Cross-Sectional Study. *Environmental Health Insights*, 16. <https://doi.org/10.1177/11786302221100047>
- Ayliffe, G.A.J. et al. (1982) *Hospital-acquired infection: principles and prevention*. John Wright & Sons Ltd.
- Azaglo, G. S. K., Khogali, M., Hann, K., Pwamang, J. A., Appoh, E., Appah-Sampong, E., ... & Harries, A. D. (2021). Bacteria and their antibiotic resistance profiles in ambient air in Accra, Ghana, February 2020: A Cross-Sectional Study. *Tropical medicine and infectious disease*, 6(3), 110. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed6030110>
- Ben Maamar, S., Glawe, A. J., Brown, T. K., Hellgeth, N., Hu, J., Wang, J. P., ... & Hartmann, E. M. (2020). Mobilizable antibiotic resistance genes are present in dust microbial communities. *PLoS pathogens*, 16(1), e1008211. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008211>
- Bessa, V. C., & Laranjeira, B. J. (2021). Mecanismos de Resistência Bacteriana em Cocos Gram Positivos. *Revista Científica UNIFAGOC-Saúde*, 5(1), 40-48.
- Borriello, S. P.; Murray, P. R.; Funke, G. (2005). *Topley & Wilson's Microbiology & Microbial Infections: Bacteriology*. Hodder Arnold.
- Brasil. (2003). Resolução-RE nº 9, de 16 de janeiro de 2003. Retrieved September 8, 2022, from http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RE_09_2003_.pdf/8ccafc91-1437-4695-8e3a-2a97deca4e10
- Bush, N. G., Diez-Santos, I., Abbott, L. R., & Maxwell, A. (2020). Quinolones: mechanism, lethality and their contributions to antibiotic resistance. *Molecules*, 25(23), 5662. <https://doi.org/10.3390/molecules25235662>
- Correia, S., Poeta, P., Hébraud, M., Capelo, J. L., & Igrejas, G. (2017). Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand?. *Journal of medical microbiology*, 66(5), 551-559. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000475>
- Dai, R., Liu, S., Li, Q., Wu, H., Wu, L., & Ji, C. (2021). A systematic review and meta-analysis of indoor bioaerosols in hospitals: The influence of heating, ventilation, and air conditioning. *PloS one*, 16(12), e0259996. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259996>
- Dimitriu, T. (2022). Evolution of horizontal transmission in antimicrobial resistance plasmids. *Microbiology*, 168(7), 001214. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001214>
- Exner, M., Bhattacharya, S., Christiansen, B., Gebel, J., Goroncy-Bermes, P., Hartemann, P., ... & Trautmann, M. (2017). Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria?. *GMS hygiene and infection control*, 12. <https://doi.org/10.3205/dgkh000290>
- Friberg, B., Friberg, S., & Burman, L. G. (1999a). Correlation between surface and air counts of particles carrying aerobic bacteria in operating rooms with turbulent ventilation: an experimental study. *Journal of hospital infection*, 42(1), 61-68. <https://doi.org/10.1053/jhin.1998.0542>
- Friberg, B., Friberg, S., & Burman, L. G. (1999b). Inconsistent correlation between aerobic bacterial surface and air counts in operating rooms with ultra clean laminar air flows: proposal of a new bacteriological standard for surface contamination. *Journal of Hospital Infection*, 42(4), 287-293. <https://doi.org/10.1053/jhin.1998.0598>
- Furtado, Diego Moreno Fernandes, Silveira, Vinicius Sousa da, Carneiro, Irna Carla do Rosário Souza, Furtado, Danielle Moreno Fernandes, & Kilishek, Monica Pereira. (2019). Consumo de antimicrobianos e o impacto na resistência bacteriana em um hospital público do estado do Pará, Brasil, de 2012 a 2016. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 10, e201900041. <https://dx.doi.org/10.5123/s2176-6223201900041>
- Gómez, J., García-Vázquez, E., & Hernández-Torres, A. (2015). Los betalactámicos en la práctica clínica. *Rev Esp Quimioter*, 28(1), 1-9.
- Hassan, A., & Zeeshan, M. (2022). Microbiological indoor air quality of hospital buildings with different ventilation systems, cleaning frequencies and occupancy levels. *Atmospheric Pollution Research*, 13(4), 101382. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2022.101382>
- Jalili, D., Dehghani, M., Fadaei, A., & Alimohammadi, M. (2021). Assessment of airborne bacterial and fungal communities in Shahrekord hospitals. *Journal of Environmental and Public Health*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8864051>

- Krumperman, P. H. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and environmental microbiology*, 46(1), 165-170. <https://doi.org/10.1128/aem.46.1.165-170.1983>
- Lima, R. M. S., Figueiredo, H. C. P., Faria, F. C. D., Picolli, R. H., Bueno Filho, J. S. D. S., & Logato, P. V. R. (2006). Antibacterial resistance in bacteria from fish pond and Nile tilapia fillets (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Agrotecnologia*, 30, 126-132. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000100018>
- Loureiro, R. J., Roque, F., Rodrigues, A. T., Herdeiro, M. T., & Ramalheira, E. (2016). O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. *Revista Portuguesa de saúde pública*, 34(1), 77-84. <https://doi.org/10.1016/j.rpsp.2015.11.003>
- Madigan, M. T. et al. (2010) *Microbiologia de Brock*. Artmed Editora.
- Mazel, D. (2006). Integrons: agents of bacterial evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 4(8), 608-620. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1462>
- Molina-Aja, A., García-Gasca, A., Abreu-Grobois, A., Bolán-Mejía, C., Roque, A., & Gomez-Gil, B. (2002). Plasmid profiling and antibiotic resistance of *Vibrio* strains isolated from cultured penaeid shrimp. *FEMS Microbiology Letters*, 213(1), 7-12. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11278.x>
- Morais, G. R., Silva, M. D., Carvalho, M. D., Santos, J. D., Dolinger, E. V., & Brito, D. V. D. (2010). Qualidade do ar interno em uma instituição de ensino superior brasileira. *Biosci J*, 26(2), 305-10.
- Mühlberg, E., Umstätter, F., Kleist, C., Domhan, C., Mier, W., & Uhl, P. (2020). Renaissance of vancomycin: Approaches for breaking antibiotic resistance in multidrug-resistant bacteria. *Canadian journal of microbiology*, 66(1), 11-16. <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0309>
- Naz, N., & Pasha, T. S. (2019). Prevalence of Antibiotic-Resistant Airborne Bacteria along Roadsides in Rahim Yar Khan, Pakistan. *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(3).
- O'Neill, J. (2016) Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations / the Review on Antimicrobial Resistance chaired. *Review on Antimicrobial Resistance*.
- Ojo, S. K. S., Sargin, B. O., & Esumeh, F. I. (2014). Plasmid Curing Analysis of Antibiotic Resistance in [3-lactamase Producing Staphylococci from Wounds and Burns Patients. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 17(1), 130-133. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2014.130.133>
- Oliveira, M. E. F., Araújo, D. G., & Oliveira, S. R. (2017). Resistência de bacilos Gram-negativos não fermentadores isolados de hemoculturas de um hospital de emergência. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 53(2), 87-91. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20170013>
- Pasquarella, C., Pitzurra, O., & Savino, A. (2000). The index of microbial air contamination. *Journal of hospital infection*, 46(4), 241-256. <https://doi.org/10.1053/jhin.2000.0820>
- Pasquarella, C., Sansebastiano, G. E., Ferretti, S., Saccani, E., Fanti, M., Moscato, U., ... & Signorelli, C. (2007). A mobile laminar airflow unit to reduce air bacterial contamination at surgical area in a conventionally ventilated operating theatre. *Journal of Hospital Infection*, 66(4), 313-319. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2007.05.022>
- Plattner, M., Gysin, M., Haldimann, K., Becker, K., & Hobbie, S. N. (2020). Epidemiologic, phenotypic, and structural characterization of aminoglycoside-resistance gene *Aac* (3)-IV. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6133. <https://doi.org/10.3390/ijms21176133>
- Ruiz-Gil, T., Acuña, J. J., Fujiyoshi, S., Tanaka, D., Noda, J., Maruyama, F., & Jorquera, M. A. (2020). Airborne bacterial communities of outdoor environments and their associated influencing factors. *Environment International*, 145, 106156.
- Saadoun, I., Jaradat, Z. W., Tayyar, I. A. A., Nasser, Z. E., & Ababneh, Q. (2015). Airborne methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the indoor environment of King Abdullah University Hospital, Jordan. *Indoor and Built Environment*, 24(3), 315-323. <https://doi.org/10.1177/1420326X14526604>
- SBM. Sociedade Brasileira de Microbiologia. (2017). A ameaça das super Bactérias. *Rev Microb In Foco*. 8(31), 6-11.
- Schwarz, S., Cloeckert, A., & Roberts, M. C. (2005). Mechanisms and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*, 73-98. <https://doi.org/10.1128/9781555817534.ch6>
- Schwarz, S., Loeffler, A., & Kadlec, K. (2017). Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. *Advances in Veterinary Dermatology*, 8, 95-110. <https://doi.org/10.1111/vde.12362>
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(5), a000414. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000414>
- Solomon, F. B., Wadilo, F. W., Arota, A. A., & Abraham, Y. L. (2017). Antibiotic resistant airborne bacteria and their multidrug resistance pattern at University teaching referral Hospital in South Ethiopia. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 16(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12941-017-0204-2>
- Stogios, P. J., & Savchenko, A. (2020). Molecular mechanisms of vancomycin resistance. *Protein Science*, 29(3), 654-669. <https://doi.org/10.1002/pro.3819>

- Sudharsanam, S., Swaminathan, S., Ramalingam, A., Thangavel, G., Annamalai, R., Steinberg, R., ... & Srikanth, P. (2012). Characterization of indoor bioaerosols from a hospital ward in a tropical setting. *African health sciences*, *12*(2), 217-225. <https://doi.org/10.4314/ahs.v12i2.22>
- Tamsi, N. S. F., Latif, M. T., Othman, M., Abu Bakar, F. D., Yusof, H. M., Noraini, N. M. R., ... & Sahani, M. (2022). Antibiotic resistance of airborne bacterial populations in a hospital environment. *Environmental Monitoring and Assessment*, *194*(9), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10291-6>
- Tang, J. W. (2009). The effect of environmental parameters on the survival of airborne infectious agents. *Journal of the Royal Society Interface*, *6*(suppl_6), S737-S746. <https://doi.org/10.1098/rsif.2009.0227.focus>
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of molecular biology*, *431*(18), 3472-3500. <https://doi.org/>
- Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L. (2012). *Microbiologia*. Artmed.
- Valedeyni, A. F., Hazrati, S., Arzanlou, M., & Fazlzadeh, M. (2018). Assessment of bacterial bio-aerosols types and its concentration in the ambient air of educational hospitals of Ardabil University of Medical Sciences in 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Van Duijkeren, E., Schink, A. K., Roberts, M. C., Wang, Y., & Schwarz, S. (2018). Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Microbiology spectrum*, *6*(2), 6-2. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0019-2017>
- Wang, M., Yao, M., & Zhu, Y. G. (2022). Antibiotic resistance genes and antibiotic sensitivity in bacterial aerosols and their comparisons with known respiratory pathogens. *Journal of Aerosol Science*, *161*, 105931. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2021.105931>
- Wang, Y., Wang, C., & Song, L. (2019). Distribution of antibiotic resistance genes and bacteria from six atmospheric environments: Exposure risk to human. *Science of the Total Environment*, *694*, 133750. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133750>
- Wargo, K. A., & Edwards, J. D. (2014). Aminoglycoside-induced nephrotoxicity. *Journal of pharmacy practice*, *27*(6), 573-577. <https://doi.org/10.1177/0897190014546836>
- WHO. World Health Organization. Antimicrobial Resistance. (2022). Retrieved September 13, 2022, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Antimicrobial-resistance>
- WHO. World Health Organization. *WHO guidelines for indoor air quality: selected pollutants*. Retrieved Dezember 5, 2010, from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/260127>
- Yan, X., Ma, J., Chen, X., Lei, M., Li, T., & Han, Y. (2022). Characteristics of airborne bacterial communities and antibiotic resistance genes under different air quality levels. *Environment International*, *161*, 107127. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107127>
- Yousefzadeh, A., Maleki, A., Athar, S. D., Darvishi, E., Ahmadi, M., Mohammadi, E., ... & Kashefi, H. (2022). Evaluation of bio-aerosols type, density, and modeling of dispersion in inside and outside of different wards of educational hospital. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(10), 14143-14157. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16733-x>
- Zeng, D., Debabov, D., Hartsell, T. L., Cano, R. J., Adams, S., Schuyler, J. A., ... & Pace, J. L. (2016). Approved glycopeptide antibacterial drugs: mechanism of action and resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, *6*(12), a026989. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026989>
- Zhang, J., Liu, G., Zhang, X., Chang, Y., Wang, S., He, W., ... & Murchie, A. I. (2020). Aminoglycoside riboswitch control of the expression of integron associated aminoglycoside resistance adenylyltransferases. *Virulence*, *11*(1), 1432-1442. <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1836910>

ANEXO I

Revista: Environmental Monitoring and Assessment

Editora: Springer

Folha de rosto

Certifique-se de que sua página de título contém as seguintes informações:

Título

O título deve ser conciso e informativo.

Informação sobre o autor

- O(s) nome(s) do(s) autor(es)
- A afiliação(ões) do(s) autor(es), ou seja, instituição, (departamento), cidade, (estado), país
- Uma indicação clara e um endereço de e-mail ativo do autor correspondente
- Se disponível, o ORCID de 16 dígitos do(s) autor(es)
- Se as informações de endereço forem fornecidas com a(s) afiliação(ões), elas também serão publicadas.

Resumo

Forneça um resumo de 150 a 250 palavras. O resumo não deve conter abreviaturas indefinidas ou referências não especificadas.

Palavras-chave

Forneça de 4 a 6 palavras-chave que podem ser usadas para fins de indexação.

Texto

Formatação de texto

Os manuscritos devem ser submetidos em Word.

- Use uma fonte normal e simples (por exemplo, Times Roman de 10 pontos) para o texto.
- Use itálico para dar ênfase.
- Use a função de numeração automática de páginas para numerar as páginas.
- Não use funções de campo.
- Use paradas de tabulação ou outros comandos para recuos, não a barra de espaço.
- Use a função de tabela, não planilhas, para fazer tabelas.
- Use o editor de equações ou MathType para equações.
- Salve seu arquivo em formato docx (Word 2007 ou superior) ou formato doc (versões mais antigas do Word).

Títulos

Não use mais de três níveis de títulos exibidos.

Abreviaturas

As abreviaturas devem ser definidas na primeira menção e usadas consistentemente depois.

Notas de rodapé

As notas de rodapé podem ser usadas para fornecer informações adicionais, que podem incluir a citação de uma referência incluída na lista de referências. Eles não devem consistir apenas em uma citação de referência, e nunca devem incluir os detalhes bibliográficos de uma referência. Também não devem conter figuras ou tabelas.

As notas de rodapé ao texto são numeradas consecutivamente; aqueles para tabelas devem ser indicados por letras minúsculas sobrescritas (ou asteriscos para valores de significância e outros dados estatísticos). As notas de rodapé ao título ou aos autores do artigo não recebem símbolos de referência.

Sempre use notas de rodapé em vez de notas de fim.

Instruções adicionais Títulos

Cabeçalhos de nível um: digitados em negrito, minúsculas, exceto a primeira letra da primeira palavra, justificados à esquerda, seguidos por uma linha em branco

Cabeçalhos de nível dois: digitados em fonte normal, minúsculas, exceto a primeira letra da primeira palavra, justificados à esquerda, seguidos por uma linha em branco

NÃO numerar títulos e subtítulos.

Referências

Citação

Cite referências no texto por nome e ano entre parênteses. Alguns exemplos:

- A pesquisa em negociação abrange muitas disciplinas (Thompson, 1990).
- Este resultado foi posteriormente contrariado por Becker e Seligman (1996).
- Este efeito tem sido amplamente estudado (Abbott, 1991; Barakat et al., 1995; Kelso & Smith, 1998; Medvec et al., 1999).

Os autores são incentivados a seguir as diretrizes oficiais da versão 7 da APA sobre o número de autores incluídos nas entradas da lista de referências (ou seja, incluir todos os autores até 20; para grupos maiores, fornecer os primeiros 19 nomes seguidos de reticências e o nome final do autor). No entanto, se os autores encurtarem o grupo de autores usando et al., isso será mantido.

Lista de referência

A lista de referências deve incluir apenas trabalhos citados no texto e que tenham sido publicados ou aceitos para publicação. Comunicações pessoais e trabalhos inéditos devem ser mencionados apenas no texto.

As entradas da lista de referências devem ser ordenadas alfabeticamente pelos sobrenomes do primeiro autor de cada trabalho.

Os nomes dos periódicos e os títulos dos livros devem estar *em itálico*.

Se disponível, inclua sempre DOIs como links completos de DOI em sua lista de referência (por exemplo, “<https://doi.org/abc>”).

- Artigo de jornal Grady, J. S., Her, M., Moreno, G., Perez, C., & Yelinek, J. (2019). Emotions in storybooks: A comparison of storybooks that represent ethnic and racial groups in the United States. *Psychology of Popular Media Culture*, 8(3), 207–217. <https://doi.org/10.1037/ppm0000185>

- Artigo de DOI Hong, I., Knox, S., Pryor, L., Mroz, T. M., Graham, J., Shields, M. F., & Reistetter, T. A. (2020). Is referral to home health rehabilitation following inpatient rehabilitation facility associated with 90-day hospital readmission for adult patients with stroke? *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1097/PHM.0000000000001435>
- Livro Sapolsky, R. M. (2017). *Behave: The biology of humans at our best and worst*. Penguin Books.
- Capítulo de livro Dillard, J. P. (2020). Currents in the study of persuasion. In M. B. Oliver, A. A. Raney, & J. Bryant (Eds.), *Media effects: Advances in theory and research* (4th ed., pp. 115–129). Routledge.
- Documento online Fagan, J. (2019, March 25). Nursing clinical brain. OER Commons. Retrieved January 7, 2020, from <https://www.oercommons.org/authoring/53029-nursing-clinical-brain/view>

Tabelas

- Todas as tabelas devem ser numeradas com algarismos arábicos.
- As tabelas devem sempre ser citadas no texto em ordem numérica consecutiva.
- Para cada tabela, forneça uma legenda (título) explicando os componentes da tabela.
- Identifique qualquer material publicado anteriormente, fornecendo a fonte original na forma de uma referência no final da legenda da tabela.
- As notas de rodapé das tabelas devem ser indicadas por letras minúsculas sobrescritas (ou asteriscos para valores de significância e outros dados estatísticos) e incluídas abaixo do corpo da tabela.

Arte colorida

A arte colorida é gratuita para publicação online.

Se for mostrado preto e branco na versão impressa, certifique-se de que as informações principais ainda estejam visíveis. Muitas cores não são distinguíveis umas das outras quando convertidas em preto e branco. Uma maneira simples de verificar isso é fazer uma cópia xerográfica para ver se as distinções necessárias entre as diferentes cores ainda são aparentes.

Se as figuras forem impressas em preto e branco, não se refira à cor nas legendas.

As ilustrações coloridas devem ser enviadas em RGB (8 bits por canal).

Letras de figuras

Para adicionar letras, é melhor usar Helvetica ou Arial (fontes sem serifa).

Mantenha as letras dimensionadas de forma consistente em toda a sua arte de tamanho final, geralmente cerca de 2 a 3 mm (8 a 12 pt).

A variação do tamanho do tipo em uma ilustração deve ser mínima, por exemplo, não use tipo 8 pt em um eixo e tipo 20 pt para o rótulo do eixo.

Evite efeitos como sombreamento, letras de contorno, etc.

Não inclua títulos ou legendas em suas ilustrações.

Numeração de Figuras

Todas as figuras devem ser numeradas com algarismos arábicos.

As figuras devem sempre ser citadas no texto em ordem numérica consecutiva.

As partes da figura devem ser indicadas por letras minúsculas (a, b, c, etc.).

Se um apêndice aparecer em seu artigo e contiver uma ou mais figuras, continue a numeração consecutiva do texto principal. Não numerar as figuras do apêndice "A1, A2, A3, etc." As figuras nos apêndices online [Informações Suplementares (SI)] devem, no entanto, ser numeradas separadamente.

Legendas das Figuras

Cada figura deve ter uma legenda concisa descrevendo com precisão o que a figura representa. Incluir as legendas no arquivo de texto do manuscrito, não no arquivo de figura.

As legendas das figuras começam com o termo Fig. em negrito, seguido do número da figura, também em negrito.

Nenhuma pontuação deve ser incluída após o número, nem qualquer pontuação deve ser colocada no final da legenda.

Identifique todos os elementos encontrados na figura na legenda da figura; e use caixas, círculos, etc., como pontos de coordenadas em gráficos.

Identifique o material publicado anteriormente, fornecendo a fonte original na forma de uma citação de referência no final da legenda da figura.

Posicionamento e tamanho da figura

As figuras devem ser enviadas dentro do corpo do texto. Somente se o tamanho do arquivo do manuscrito causar problemas no upload, as figuras grandes devem ser submetidas separadamente do texto.

Ao preparar suas figuras, dimensione as figuras para caber na largura da coluna.

Para periódicos de tamanho grande, as figuras devem ter 84 mm (para áreas de texto de coluna dupla) ou 174 mm (para áreas de texto de coluna única) de largura e não superior a 234 mm.

Para revistas de pequeno porte, as figuras devem ter 119 mm de largura e não mais que 195 mm.

Permissões

Se você incluir figuras que já foram publicadas em outro lugar, você deve obter permissão do(s) proprietário(s) dos direitos autorais para o formato impresso e online. Esteja ciente de que alguns editores não concedem direitos eletrônicos gratuitamente e que a Springer não poderá reembolsar quaisquer custos que possam ter ocorrido para receber essas permissões. Nesses casos, deve-se usar material de outras fontes.