



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA MÉDICA**

**JULIANA ARAÚJO NOBRE**

**CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE BACTERIANA E SENSIBILIDADE  
ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE MORCEGOS DA REGIÃO  
METROPOLITANA DE FORTALEZA**

**FORTALEZA-CE**

**2023**

**JULIANA ARAÚJO NOBRE**

**SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE  
MORCEGOS DA REGIÃO METROPOLITANA DE FORTALEZA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Microbiologia Médica. Área de concentração: Microbiologia Humana e Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Castelo Branco Souza Collares Maia

Coorientador: Prof. Dr. Felipe Pantoja Mesquita

**FORTALEZA-CE**

**2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A689c Araújo Nobre, Juliana.

Caracterização da diversidade bacteriana e sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza / Juliana Araújo Nobre. – 2023.

73 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Débora Castelo Branco Souza Collares Maia.

Coorientação: Prof. Dr. Felipe Pantoja Mesquita.

1. quirópteros. 2. microbiota. 3. resistência bacteriana a drogas. I. Título.

CDD 616.9

---

**JULIANA ARAÚJO NOBRE**

**SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE  
MORCEGOS DA REGIÃO METROPOLITANA DE FORTALEZA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Microbiologia Médica. Área de concentração: Microbiologia Humana e Animal.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Débora Castelo Branco Souza Collares Maia (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Raquel Carvalho Montenegro  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Glaucia Morgana de Melo Guedes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À minha mãe, Ana Glécia.

À minha resiliência.

## **AGRADECIMENTOS**

À UFC pela oportunidade de fazer um mestrado de qualidade em uma instituição de excelência, e à FUNCAP, pela bolsa de auxílio.

À minha mãe, sempre minha maior apoiadora e companheira dessa minha jornada na vida.

À Profa. Dra. Débora Castelo Branco Souza Collares Maia, pela chance e acolhimento que me deu em seu grupo de pesquisa (GrAMM), pela paciência e pelos ensinamentos, ao longo de sua orientação.

Aos professores participantes da banca examinadora da qualificação e da defesa pela disponibilidade, sugestões e conhecimentos compartilhados. Prof. Dr. Felipe Pantoja Mesquista, coorientador, pela ajuda e treinamentos em biologia molecular. Pr. Dr. Francisco Esmale de Sales Lima, sempre solícito à responder minhas dúvidas. Profa. Dra. Raquel Montenegro, pela contribuição e parceria do FARMAGEN. E a Profa. Dra. Glaucia Morgana de Melo Guedes que contribuiu bastante para este trabalho, desde as coletas até a defesa.

À toda equipe que participou das coletas, principalmente ao Veterinário da ADAGRI Msc. José Erisvaldo Maia, que tornou possível a concretização desse trabalho. À demais equipe da ADAGRI, e também à Prefeitura de Itaitinga, pela hospitalidade na coleta realizada na cidade.

Ao Expedito Maia Diógenes, minha dupla, #JUXPE, desde o primeiro dia que fui ao laboratório, responsável pela minha iniciação em Bacteriologia, me ensinou tudo que precisava para seguir com meu projeto. Além de toda sua ajuda nas coletas, experimentos, e no dia-a-dia, pela convivência, sempre deixando os dias mais leves, pelo apoio e pelos conselhos.

Ao Msc. Francisco Bergson Moura, Dr. Ricardo Moratelli, e Dr. Vinicius Claudio pelas contribuições nas identificações das espécies de morcegos.

À equipe do GrAMM, pela acolhida e pela convivência cotidiana e ajuda. Principalmente aos que participaram ativamente do meu trabalho, Paulo, Thiago, Jaiane, Felipe, Jardel, Luana e Vinícius.

Aos funcionários do PPGMM, por toda a ajuda e cordialidade na rotina.

Aos colegas de pós-graduação, por deixar o ambiente acadêmico mais leve e dinâmico, para aprender sobre microbiologia, com suas vivências.

A todos os animais que foram capturados para coleta, neste trabalho.

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade”

Marie Curie.

## RESUMO

Os morcegos são mamíferos voadores notavelmente conhecidos como reservatórios naturais de diversos patógenos potencialmente zoonóticos, como vírus, bactérias, fungos e protozoários. Todavia, estudos sobre a microbiota de morcegos, inclusive na região nordeste do Brasil são escassos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi isolar e identificar bactérias de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza (RMF), Ceará, e avaliá-las quanto à sensibilidade antimicrobiana. Um total de 51 morcegos, de nove espécies, quatro gêneros, e seis hábitos alimentares diferentes, foram capturados em três municípios (Pacatuba, Itaitinga e Maranguape), onde abrigavam-se em construções abandonadas ou pouco utilizadas, em 2021 e 2022. Amostras de *swabs* (orofaringe e retal) e de guano foram obtidas, totalizando 117 amostras, 101 de *swabs* e 16 de guano. Em laboratório, as amostras foram cultivadas em ágar MacConkey e ágar sangue 5% com base Columbia. Após triagem e estocagem, os isolados foram submetidas à identificação bioquímica. Testes de sensibilidade aos antimicrobianos foram realizados, pelo método de disco-difusão ou microdiluição. O total de 222 bactérias foi obtido, com 135 bacilos Gram-negativos (BGN), 63 cocos Gram-positivos (CGP) e 24 bacilos Gram-positivos (BGP). Bactérias da ordem Enterobacterales (em especial os gêneros *Enterobacter*, *Klebsiella* and *Escherichia*) e *Staphylococcus* coagulase negativa (*S. xylosus* and *S. sciuri*) foram as mais presentes. Resistência a pelo menos um antimicrobiano foi observada em 59,8% (113/189) dos isolados, em 80,4% (41/51) dos animais, e em 100% das amostras de guano testadas. Destes, a espécie *D. rotundus* e guano de colônia de espécies mistas se destacaram ( $P=0,0026$ ). Os antimicrobianos, aos quais, os isolados apresentaram mais resistência foram cefalotina e ampicilina ( $P<0,0001$ ). O presente estudo apresenta dados inéditos sobre a caracterização da diversidade bacteriana e sensibilidade antimicrobiana, de bactérias do trato gastrointestinal (TGI) de morcegos da RMF. Considerando que esses animais silvestres nunca foram tratados com antimicrobianos, questiona-se a origem da elevada resistência a antimicrobianos observada, sendo necessárias pesquisas sob a perspectiva da Saúde Única para melhor compreender a dinâmica de aquisição de resistência das bactérias da microbiota do TGI de morcegos.

**Palavras-chave:** quirópteros; microbiota; resistência bacteriana a drogas.

## ABSTRACT

Bats are flying mammals notably known as natural reservoirs of several potentially zoonotic pathogens, such as viruses, bacteria, fungi and protozoa. However, studies on the microbiota of bats, including in the northeast region of Brazil, are scarce. Thus, the objective of this work was to isolate and identify bacteria from bats in the Metropolitan Region of Fortaleza (RMF), Ceará, and to evaluate them for antimicrobial susceptibility. A total of 51 bats, of nine species, four genus, and six different feeding habits, were captured in three municipalities (Pacatuba, Itaitinga and Maranguape), where they sheltered in abandoned or little-used buildings, in 2021 and 2022. Samples of swabs (oropharynx and rectum) and guano were obtained, totaling 117 samples, 101 of which were swabs and 16 were guano. In the laboratory, the samples were cultivated in MacConkey agar and blood agar 5% with Columbia base. After screening and stock, the isolates were submitted to biochemical identification. Antimicrobial susceptibility tests were performed, using the disk-diffusion or microdilution method. A total of 222 bacteria were obtained, with 135 Gram-negative bacilli (GNB), 63 Gram-positive cocci (CGP) and 24 Gram-positive bacilli (BGP). Bacteria of the order Enterobacterales (especially the genus *Enterobacter*, *Klebsiella* and *Escherichia*) and *Staphylococcus* coagulase negative (*S. xylosus* and *S. sciuri*) were the most common. Resistance to at least one antimicrobial was observed in 59.8% (113/189) of the isolates, in 80.4% (41/51) of the animals, and in 100% of the guano samples tested. Of these, the species *D. rotundus* and guano from mixed species colonies ( $P=0.0026$ ) stood out. The antimicrobials to which, BGN and CGP, showed the most resistance were cephalothin and ampicillin ( $P<0.0001$ ). The present study presents unprecedented data on the characterization of bacterial diversity and antimicrobial sensitivity of bacteria from the gastrointestinal tract (GIT) of bats from the RMF. Considering that these wild animals were never treated with antimicrobials, the origin of the high resistance to antimicrobials observed is questioned, and research is needed from the One Health approach to better understand the dynamics of resistance acquisition of bacteria from TGI microbiota of bats.

**Keywords:** chiroptera; microbiota; drug resistance, bacterial.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Mapa com registros de espécies de Microchiroptera no Brasil.....	19
Figura 2 –	Diversidade bacteriana do trato gastrointestinal de morcegos.....	22
Figura 3 –	Mapa da Região Metropolitana de Fortaleza.....	29
Figura 4 –	Locais de captura dos morcegos.....	30
Figura 5 –	Materiais utilizados na captura dos morcegos.....	31
Figura 6 –	Coleta de <i>swabs</i> em morcego da espécie <i>Demodus rotundus</i> .....	31
Figura 7 –	Aspecto de guano em camadas, coletado de colônia de morcego onívoro.....	32
Figura 8 –	Fluxograma de coleta e processamento primário das amostras.....	33
Figura 9 –	Exemplares de espécies de morcegos capturadas e coletadas.....	39
Gráfico 1 –	Colonização da microbiota gastrointestinal de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE, por filo bacteriano e hábito alimentar.....	41
Gráfico 2 –	Colonização do guano de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE, por filo bacteriano, hábito alimentar e aspecto do guano.....	42
Figura 10 –	Bateria de testes bioquímicos para detecção de bacilos Gram-negativos da ordem Enterobacterales.....	43
Figura 11 –	Painéis Walkaway® para detecção de bactérias Gram-positivas (esquerda) e Gram-negativas (direita) e sensibilidade antimicrobiana.....	45
Gráfico 3 –	Representação das espécies de morcegos com isolados não sensíveis .....	48
Figura 12 –	Método de disco-difusão para avaliar a sensibilidade antimicrobiana de um bacilo Gram-negativo da ordem Enterobacterales .....	50

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1 – Locais de captura dos morcegos e coleta das amostras.....	30
Quadro 2 – Drogas selecionadas para avaliação da sensibilidade antimicrobiana de bacilos Gram-negativos por microdiluição em painel do MicroScan WalkAway.....	35
Quadro 3 – Drogas selecionadas para avaliação da sensibilidade antimicrobiana de cocos Gram-positivos por microdiluição em painel do MicroScan WalkAway.....	36
Quadro 4 – Diversidade de espécies dos morcegos capturados para a coleta das amostras .....	38
Quadro 5 – Bacilos Gram-negativos isolados da microbiota de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE, por grupo bacteriano, sítio e município de coleta.....	44
Quadro 6 – Cocos Gram-positivos isolados da microbiota de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE, por grupo bacteriano, sítio e município de coleta.....	46
Tabela 1 – Bactérias resistentes à antimicrobianos por local de coleta, espécie animal, hábito alimentar e sexo.....	47
Quadro 7 – Sensibilidade antimicrobiana de bacilos Gram-negativos da ordem Enterobacterales, isolados de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE.....	50
Quadro 8 – Sensibilidade antimicrobiana de Bacilos Gram-negativos oxidade positiva e não fermentadores, isolados de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE.....	52
Quadro 9 – Sensibilidade antimicrobiana de cocos Gram-positivos, isolados de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE.....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\geq$	Maior ou igual que
$\mu$ l	Microlitros
ADAGRI	Agência de Defesa Agropecuária do Ceará
AMR	Resistência antimicrobiana
BrCAST	Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos
CE	Ceará
CGP	Cocos Gram-positivos
CIMs	Concentrações inibitórias mínimas
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CoNs	Coagulase negativa
BGN	Bacilos Gram-negativos
BGNNF	Bacilos Gram-negativos não fermentadores
BGP	Bacilos Gram-positivos
EAEC	Enteroagregativa
EHEC	Enterohemorrágica
EIEC	Enteroinvasiva
ESBL	Enterobacterales produtoras de carbapenemases e de beta-lactamases de espectro estendido
EPEC	Enteropatogênica
ETEC	Enterotoxigênica
EUA	Estados Unidos da América
FUNCAP	Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico
GrAMM	Grupo Aplicado em Microbiologia Médica
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade
INS	Isolados não sensíveis
IPECE	Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará
km	Quilômetro
MALDI-TOF	Ionização e dessorção a laser assistida por matriz

MERS-CoV	Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave do Oriente Médio
MH	Müeller Hinton
mL	Mililitro
MMA	Ministério do Meio Ambiente
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à Meticilina
OIE	Organização Mundial da saúde animal
OMS	Organização Mundial da saúde
PAD	Fenilalanina desaminase
PAN-BR AGRO	Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos antimicrobianos no âmbito da Agropecuária
PR	Paraná
RMF	Região Metropolitana de Fortaleza
rpm	Rotações por minuto
SARS-CoV	Vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV-2	Vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave
SIBBR	Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira.
SIM	Sulfeto de hidrogênio, indol e motilidade
SISBio	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SP	São Paulo
TGI	Trato gastrintestinal
TSI	<i>Triple Sugar Iron</i>
TO	Tocantins
UFC	Universidade Federal do Ceará
UFC/mL	Unidade formadora de colônia/mililitro
VP	Voges-Proskauer

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>Morcegos (Ordem Chiroptera) .....</b>	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>Estudo da microbiota de morcegos.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3</b>	<b>Resistência antimicrobiana em bactérias isoladas de morcegos.....</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>HIPÓTESES.....</b>	<b>27</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>28</b>
<b>5</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>29</b>
<b>5.1</b>	<b>Aspectos éticos e licença ambiental.....</b>	<b>29</b>
<b>5.2</b>	<b>Região Metropolitana de Fortaleza.....</b>	<b>29</b>
<b>5.3</b>	<b>Locais de coleta, animais capturados e amostras.....</b>	<b>30</b>
<b>5.4</b>	<b>Isolamento e identificação bacteriana.....</b>	<b>32</b>
<b>5.5</b>	<b>Avaliação da sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos.....</b>	<b>34</b>
<b>5.6</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>37</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>38</b>
<b>6.1</b>	<b>Animais capturados.....</b>	<b>38</b>
<b>6.2</b>	<b>Isolamento bacteriano dos morcegos.....</b>	<b>40</b>
<b>6.3</b>	<b>Identificação de bactérias.....</b>	<b>42</b>
<b>6.4</b>	<b>Sensibilidade antimicrobiana.....</b>	<b>47</b>
<b>6.4.1</b>	<b>Sensibilidade antimicrobiana de bacilos Gram-negativos .....</b>	<b>49</b>
<b>6.4.2</b>	<b>Sensibilidade antimicrobiana de cocos Gram-positivos.....</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>54</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os morcegos, únicos mamíferos capazes de voar, são notavelmente conhecidos como reservatórios naturais de diversos patógenos emergentes e reemergentes potencialmente zoonóticos, como vírus, bactérias, fungos e protozoários, que podem causar doenças em humanos e/ou em animais domésticos (MÜHLDORFER, 2013; BROOK; DOBSON, 2015; ALOCATTI et al., 2016; LETKO et al., 2020). Cerca de 60% das doenças infecciosas existentes em humanos são de origem zoonótica, pelo menos 73% das doenças infecciosas emergentes tem origem em animais, e mais de dois terços destas se originam na vida selvagem (VAN DOORN, 2017; BEENA; SAIKUMAR, 2019).

Vários fatores contribuem para que os morcegos sejam disseminadores de patógenos emergentes, como a capacidade de realizar longos voos, se adaptar aos mais diversos ambientes, como em áreas urbanas próximo de humanos e animais domésticos, longevidade, menor susceptibilidade a patologias causadas por diversos patógenos infecciosos humanos e animais, muitas vezes permanecendo assintomáticos (ALOCATTI et al., 2016; WANG; ANDERSON, 2019). Poucos organismos patogênicos para os morcegos são descritos, como o vírus da Raiva (gênero *Lyssavirus* spp.), a bactéria do gênero *Borrelia* spp., o fungo *Pseudogymnoascus destructans* (white-nose syndrome) e o helminto (*Lecithodendrium* spp.) (BROOK; DOBSON., 2015). Ao que parece, os morcegos conseguiram em sua evolução balancear seu próprio sistema imune, para ser menos reativo, e ainda assim eficiente, conseguindo adaptar as altas variações de temperaturas corporais, podendo atingir 40°C, e taxas metabólicas durante seus voos, e, dessa forma, responder e sobreviver a infecções, tanto por resistência ou tolerância à essas, especialmente para vírus letais em seres humanos e outros animais (BROOK; DOBSON., 2015; WEINBERG; YOVEL, 2022).

Estudos no Brasil relatam cada vez mais, a presença de morcegos em áreas urbanas, praças e parques de grandes cidades, o que se dá majoritariamente pela emigração destes animais de seus habitats naturais, que muitas vezes são destruídos pela intervenção humana (FRANCO BESSA et al., 2010; DE OLIVEIRA et al., 2015; DE REZENDE et al., 2017). Como isso pode influenciar o crescimento no número de doenças emergentes e reemergentes no país? Quanto maior a

proximidade, seja direta ou indireta, entre humanos e morcegos, maiores são as chances de *spillover* entre as espécies, fenômeno frequentemente relatado, principalmente em infecções virais, como o que aconteceu com o Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV), podendo, então, contribuir para novos surtos de doenças zoonóticas (HAYMAN et al., 2013).

Bactérias patogênicas isoladas de morcegos, como *Bartonella* spp., *Leptospira* sp., *Rickettsia rickettsii*, e *Escherichia coli* produtora de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBLs) já foram relatadas (MÜHLDORFER, 2013; FEDERICI et al., 2022). No entanto, estudos sobre bactérias resistentes a antimicrobianos são escassos (DIMKIĆ et al., 2021), inclusive no Brasil, especialmente na região nordeste. Com isso, o objetivo deste trabalho é isolar e identificar bactérias do trato gastrointestinal e guano de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, Ceará, e avaliá-las quanto à sensibilidade antimicrobiana.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Morcegos (Ordem Chiroptera)

Morcegos são mamíferos voadores da segunda ordem mais diversa de mamíferos, somente atrás dos roedores, e estão distribuídos em quase todos os continentes, exceto na Antártica (LETKO et al., 2020). A ordem Chiroptera “mãos em forma de asa” (do grego, cheir = mão + pteron = asa), ainda divide-se em duas subordens, Megachiroptera “morcegos gigantes”, chamados também de morcegos do velho mundo, estão distribuídos no sudeste asiático, Índia, na região tropical da África e Austrália, e Microchiroptera “morcegos pequenos” ou morcegos do novo mundo, que está distribuída no continente americano, e já foi relatada (Figura 1) em todas as regiões do Brasil (dos REIS et al., 2007). Outra denominação para os morcegos do novo mundo, principalmente da América do Sul é de “morcegos neotropicais”. Existem cerca de 1120 espécies, 202 gêneros, e 18 famílias no mundo, e o Brasil abriga aproximadamente 15% da diversidade mundial de morcegos, com 181 espécies distintas, 68 gêneros e 9 famílias (JUNG; KALKO, 2011; GÓES et al., 2016; GARBINO et al., 2020).

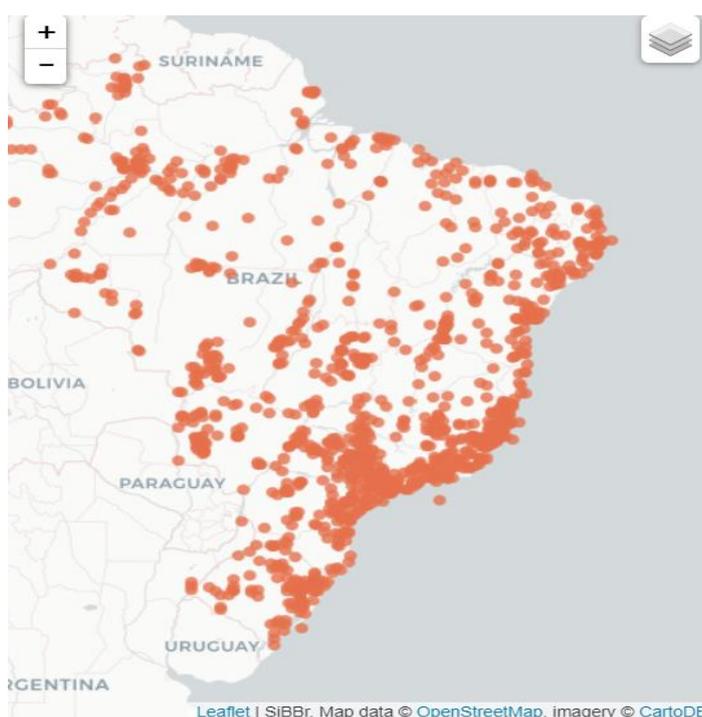
Geralmente de tamanho pequeno, ao contrário de outros mamíferos de pequeno porte, os morcegos têm grande longevidade, podendo viver mais de 30 anos. Sua capacidade de alçar longos voos, pode aumentar sua capacidade de disseminar patógenos em grandes áreas, e adquirir novos microrganismos, especialmente as espécies migratórias, que podem migrar até mais de mil quilômetros de distância (ALLOCATI et al., 2016). Sobretudo, esses animais geralmente vivem em grandes colônias, em locais como cavernas, sótãos, árvores ocas e casas abandonadas, tem vida noturna ativa, e hábito alimentar diverso, podendo alimentar-se de insetos, frutas, néctar, peixes, pequenos crustáceos, anfíbios e sangue (morcegos vampiros). Além disso, os morcegos são animais de importante papel ecológico, como controle de pestes, polinização e dispersão de sementes (GORBUNOVA; SELUANOV; KENNEDY, 2020). E podem ter características sinantrópicas já que algumas espécies, em especial, aquelas de hábito alimentar insetívoro e frugívoro, estão bem adaptadas a habitats em áreas urbanas e peri-urbanas (JUNG; KALKO, 2011; EGERT-BERG et al., 2021).

Os morcegos ficaram em evidência como reservatórios de coronavírus causadores de doenças respiratórias graves em humanos, nas últimas duas décadas três coronavírus emergiram, o Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) em 2002/2003 na China, o Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente médio (MERS-CoV) em 2012 no Reino da Arábia Saudita, e o Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2) em 2019 na China (CHEN; LIU; GUO, 2020; DECARO et al., 2020). Antes disso, estes animais eram conhecidos como reservatórios de vírus letais para seres humanos e outros animais, como o vírus Ebola, Nipah e Hendra, os quais foram relacionados a eventos de *spillover* de morcegos para animais domésticos na África, Ásia e Austrália, respectivamente (CROWLEY et al., 2020). O vírus da raiva (gênero *Lyssavirus*) é descrito em morcegos há mais de um século, que são os principais reservatórios de 10 das 11 espécies reconhecidas desse gênero (BEENA; SAIKUMAR, 2019; KUZMIN et al., 2011). Além disso, hantavírus, que causam doenças graves, também já foram relatados em morcegos no Brasil (de ARAÚJO et al., 2012). Ademais, alguns protozoários e fungos parecem ter coevoluído com morcegos, proporcionando uma forma de manutenção desses microrganismos no ambiente, com destaque para o fungo *Histoplasma capsulatum*, causador da histoplasmose, doença grave em humanos imunocomprometidos, e o *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas, endêmica no Brasil (BROOK; DOBSON, 2015; DIMKIĆ et al., 2021).

Quanto as bactérias patogênicas já isoladas de morcegos, destacam-se *Bartonella* spp. e outras bactérias transmitidas por vetores como *Coxiella* sp. e hemoplasmas (micoplasmas hemotrópicos), além de *Leptospira* sp. (FRANCO BESSA et al., 2010; CORRÊA et al., 2013; IKEDA et al., 2017; FERREIRA et al., 2018). No Brasil, todas estas bactérias citadas já foram detectadas em morcegos, principalmente nas regiões sudeste e sul. Em relação à região nordeste, além de detecção de *Bartonella* spp. (FERREIRA et al., 2018; ANDRÉ et al., 2019), recentemente foi observado por Jorge et al. (2022) 5% de positividade de *Borrelia* spp. em morcegos vampiros no Ceará, mesmo estado do presente estudo. Já levantamentos sobre perfil de sensibilidade de bactérias resistentes à antibióticos com amostras da microbiota do trato gastrintestinal e guano de morcegos no Brasil são escassos, limitando-se as regiões sudeste e sul (CLÁUDIO et al., 2018; COSTA et al., 2018; SENS-JUNIOR et al., 2018).

Segundo Instrução normativa nº 141 de 19/12/2006 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), os morcegos são considerados animais com importante funções ecológicas, em especial as espécies insetívoras (em cavidades subterrâneas) como controle de pragas, e espécies nectarívoras, como polinizadores, e a conservação de espécies ameaçadas de extinção está determinada pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA), e amparada pela lei Nº 9605 de 12/02/98 (IBAMA), contra maus-tratos e danos que levem à morte, a última lista das espécies em risco foi atualizada em 2008 (AGUIAR; ZORTÉA, 2018; WITT; GRILLO, 2018). Para execução de projetos de pesquisa, no qual é necessária a captura e coleta, desses animais, autorização deve ser solicitada pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio), do Instituto Chico Mendes de Conservação da biodiversidade (ICMBio).

Figura 1 – Mapa com registros de espécies de Microchiroptera no Brasil



Fonte: SIBBR, 2022

## 2.2 Estudo da microbiota em morcegos

Microbiota, por definição, consiste em uma quantidade de microrganismos marcadamente heterogêneos, pertencentes a diferentes reinos, capazes de viver em determinados ambientes, com destaque de abundância para, os que residem nas

superfícies corporais e dentro do corpo de humanos e animais, formando grandes complexos, como bactérias, fungos e protozoários. Já o microbioma é o conjunto abrangendo a microbiota e sua capacidade (elementos estruturais, metabólitos e de motilidade, por exemplo, transposons e vírus) de oferecer “ameaça” para a saúde do indivíduo, causando infecções através destes patógenos (BERG et al., 2020; FEDERICI et al., 2022).

Embora existam diversos estudos investigando a presença de microrganismos, especialmente, vírus de potencial zoonótico em morcegos, os estudos sobre a composição da microbiota bacteriana e da sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de morcegos ainda são escassos (DIMKIĆ et al., 2021). Trabalhos iniciais com morcegos do novo mundo, eram majoritariamente focados na microbiota bacteriana gastrintestinal, onde foram isolados bactérias de gêneros como *Escherichia*, *Enterococcus* e *Proteus* de intestinos dos animais. Antes disso, somente isolamento de fungos patogênicos como (*Histoplasma capsulatum* e *Candida albicans*) foram reportados (MÜHLDORFER, 2013). Limitações como dificuldade de coletas dos animais em questão, e falta de recursos humanos especializados para o mesmo, podem influenciar no número baixo de estudos, e dessa maneira a caracterização da eco-epidemiologia de bactérias potencialmente patogênicas da microbiota gastrintestinal de morcegos pode estar sendo subestimada (DIMKIĆ et al., 2021).

As amostras mais utilizadas para o isolamento de bactérias da microbiota do trato gastrintestinal de morcegos são de tecidos intestinais e / ou amostras de guano (retiradas diretamente do conteúdo intestinal) (DIMKIĆ et al., 2021), além de *swabs* retais (MÜHLDORFER et al, 2013). Já estudos sobre isolamento de bactérias em amostras de guano (fezes frescas ou em camadas) coletadas do ambiente de seus abrigos, e de *swabs* orais são mais recentes (CLÁUDIO et al., 2018; COSTA et al., 2018; SENS-JUNIOR et al., 2018; DIMKIĆ et al., 2021).

Os Bacilos Gram-negativos (BGN), da ordem *Enterobacterales*, são mais comumente encontrados no meio ambiente (solo, água e plantas), e como sugere o nome da família, no trato gastrintestinal de humanos e animais. Já os bacilos Gram-negativos não fermentadores (BGNNF) tem esse nome por não utilizar a via de fermentação de açúcares (glicose e carboidratos), e sim, utilizar de via de oxidação, para obtenção destes açúcares, como fonte de energia. Por isto, em maioria, os BGNNF são positivos no teste da enzima citocromo oxidase (KONEMAN, 2018). A

maior parte dos estudos publicados sobre microbiota gastrointestinal de morcegos foca em BGN, incluindo produtores de carbapenemases e de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBLs), e ainda, no isolamento somente da espécie *Escherichia coli* (CABAL et al., 2015; NOWAKIEWICZ et al., 2020a; OBODOECHI et al., 2021), uma vez que, esta pode ser uma espécie chave para predição de tendências de resistência / multirresistência antimicrobiana, especialmente as produtoras de ESBLs (FEDERICI et al., 2022).

Já foram publicados na literatura estudos da diversidade bacteriana da microbiota do trato gastrointestinal de morcegos ao redor do mundo, relatando isolados em sua maioria de BGN, tanto em morcegos do velho mundo, a exemplo dos países da Índia, Espanha, Polônia, Nigéria, China (SELVIN et al., 2019; GARCÍA et al., 2020; NOWAKIEWICZ et al., 2020a; OBODOECHI et al., 2021; HUANG et al., 2022), como em morcegos do novo mundo, a exemplo do Brasil (LEIGUE DOS SANTOS et al., 2013; CABAL et al., 2015; CLÁUDIO et al., 2018; COSTA et al., 2018; SENS-JUNIOR., 2018), Estados Unidos da América (EUA) (NEWMAN et al., 2018), México (GALICIA JIMÉNEZ; BUENROSTRO; GARCÍA, 2014), e Peru (BENAVIDES et al., 2018; BENAVIDES et al., 2022).

Cocos Gram-positivos (CGP), são microrganismos mais comuns na microbiota da pele, mucosas e superfícies do corpo humano e animal, estando bem disseminados no ambiente (KONEMAN, 2018). Para diferenciação em triagem inicial, após verificadas a morfologia, arranjo e afinidade tintorial, utiliza-se o teste de produção da enzima catalase, para *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp., a qual está presente nos cocos do primeiro gênero citado, que ainda podem diferenciar-se através do teste da coagulase, em *Staphylococcus* Coagulase negativa (CoNs) ou positiva (LEBOFFE; PIERCE, 2011). *Streptococcus* spp. podem apresentar diferentes tipos de hemólise em ágar sangue. Já os *Enterococcus* são geralmente identificados por métodos automatizados, como Ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS), pois não existem testes bioquímicos que os diferenciem de outros CGP catalase negativos (GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019).

Acredita-se que hábitos alimentares diversos dos morcegos (Figura 2) podem influenciar para sua riqueza bacteriana da microbiota gastrointestinal, na aquisição e transmissão desses microrganismos. Em relação à composição de sua microbiota intestinal, os microrganismos potencialmente patogênicos, são em

maioria pertencentes ao filo *Proteobacteria*, em especial, a família *Enterobacteriaceae* (gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter*), além de *Plesiomonas*, seguido por *Firmicutes* (*Weissella*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Bacillus*). Na microbiota da cavidade oral, também predominam o filo *Proteobacteria* (*Xanthomonas*, *Aeromonas* e *Serratia*), e *Firmicutes* (*Staphylococcus* e *Bacillus*). Além disso, fatores como hibernação (jejum extremo), para a microbiota intestinal, e diferenças no pH da saliva, para a oral, influenciam em suas respectivas colonizações (FEDERICI et al., 2022).

Figura 2 – Diversidade bacteriana do trato gastrointestinal de morcegos

Hábito alimentar	Cavidade oral
Insetívoro	<i>Staphylococcus</i> <i>Bacillus</i> <i>Xanthomonas</i> <i>Serratia</i> <i>Aeromonas</i> <i>Burkholderia</i> <i>Helicobacter</i> <i>Bartonella</i>



Hábito alimentar	Trato intestinal
Insetívoro	<i>Plesiomonas</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Bacillus</i>
Frugívoro/ Nectarívoro	<i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Weissella</i> <i>Ureaplasma</i> <i>Fructobacillus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Actinobacillus</i>

Fonte: Modificado de FEDERICI et al. (2022)

Morcegos não hematófagos, podem ainda complementar sua alimentação com outras fontes de alimentação, principalmente insetívoros e frugívoros, além de poder dessa maneira, adquirir patógenos das suas fontes de alimentação, insetos, frutas, e vice-versa, espécies dessas duas dietas costumam ser as que vivem em abrigos que proporcionam maior proximidade com os humanos, sendo consideradas

sinantrópicas. Assim, as proporções do papel desses animais como carreadores e / ou disseminadores de patógenos bacterianos pode ser potencializada (MÜHLDORFER, 2013, CLÁUDIO et al., 2018).

O bacterioma do guano de morcegos ao redor do mundo, começou a ser caracterizado especialmente na última década, a partir do ano de 2013, em países do velho mundo, com destaque para Índia, e países da Europa, como Holanda e Sérvia, e na América, nos EUA. No geral os filos predominantes foram Proteobacteria (gêneros *Serratia* e *Enterobacter*) e Firmicutes (*Staphylococcus* e *Enterococcus*) (DIMKIĆ et al., 2021), já os filos Bacteroidetes e Actinobacteria são menos comuns, especialmente se comparado a outros mamíferos não voadores (SUN et al., 2020). A diversidade de bactérias variam no que concerne ao tipo de amostra (fezes frescas ou secas), aspecto (superficial ou em camadas), ponto de coleta (cavernas ou outros ambientes), e quanto às espécies de morcegos (NEWMAN et al., 2018; DIMKIĆ et al., 2021).

### **2.3 Resistência antimicrobiana em bactérias isoladas de morcegos**

O surgimento de bactérias resistentes a antimicrobianos é um dos maiores problemas de saúde pública em todo o mundo, pois limita as opções de medicamentos contra infecções bacterianas, em humanos e outros animais. Há estimativas alarmantes para as próximas décadas, principalmente nos países em desenvolvimento, incluindo o Brasil (BONELLI, MOREIRA, PICÃO, 2014). Vários fatores contribuem para a resistência antimicrobiana (AMR), como atividades agropecuárias com uso em larga escala de antimicrobianos em animais de produção, contaminação ambiental com dejetos e subprodutos de práticas humanas, falta de saneamento básico e baixo investimento no desenvolvimento de novos medicamentos em países em desenvolvimento, entre outros (BONELLI, MOREIRA, PICÃO, 2014; CLÁUDIO et al., 2018; SENS-JUNIOR et al., 2018).

Em 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) listou as espécies e famílias de bactérias patogênicas de maior interesse na busca urgente de novos antimicrobianos, com destaque para *Pseudomonas aeruginosa* e a ordem Enterobacterales produtoras de carbapenemases e de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), listados como prioridade crítica (OMS, 2017). Essas bactérias são de grande interesse na América Latina, pois estão entre os agentes etiológicos mais

prevalentes de infecções associadas à assistência à saúde, e adquiridas na comunidade (BONELLI, MOREIRA; PICÃO, 2014). Quanto aos cocos Gram-positivos (CGP), o maior alerta é direcionado a *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), antes associados somente a infecções adquiridas nos serviços de assistência à saúde, mas atualmente descrito em infecções adquiridas na comunidade (MEDIIVILLA et al., 2012), e a *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VRE), os quais, estão listados como prioridade alta, na busca de desenvolvimento de novos antimicrobianos (OMS, 2017).

Até o presente momento, existem dois estudos que investigaram a presença de bacilos Gram-negativos resistentes a antimicrobianos na microbiota (cavidade oral e períneo/reto) de morcegos no Brasil, a pesquisa de Cláudio et al. (2018), no estado de São Paulo (SP), e de Sens-Junior et al. (2018), no Paraná (PR), ambos realizados no bioma da Mata Atlântica. Nenhum desses dois trabalhos avaliou a sensibilidade antimicrobiana em cocos Gram-positivos, apesar de Cláudio et al. (2018) terem reportado isolados de *S. aureus* e de *E. faecalis*. Dentre as espécies de morcegos em que foram reportados mais BGN resistentes, destacam-se *Artibeus lituratus* (espécie insetívora) e *Carollia perspicillata* (espécie frugívora).

Ademais, outros dois trabalhos no Brasil, utilizaram guano como amostra estudada, Cabal et al. (2015) e Costa et al. (2018), para isolamento de *E. coli* e *Enterococcus* sp., respectivamente. O primeiro teve como objetivo detectar genes de virulência associados a cinco patótipos intestinais de *E. coli*, i. e. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC). Os genes de virulência foram detectados em 82 amostras (em pool) de guano de morcego das espécies *Artibeus planirostris* e *C. perspicillata*, no estado de TO. Os autores encontraram 22% de positividade para a presença de *E. coli* e 10,4% de positividade para quatro genes-alvo: 4,4% para eae, 1,2% para bfpA e 1,45% para eae/bfpA (genes EPEC); 1,45% para st (gene ETEC), e 0,97% para aggR (gene EAEC), além de 0,97% para eae/bfpA/st (genes mistos EPEC e ETEC), sugerindo a presença de *E. coli* enteropatogênica no guano (CABAL et al., 2015).

Trabalhos em diferentes outros países investigaram o potencial dos morcegos como reservatórios de bactérias resistentes, maior parte investigaram resistência em bacilos Gram-negativos, em especial os produtores de *ESBL*, e poucos em bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus* spp. e *Bacillus* spp. Na

Índia, com isolados de bacilos Gram-negativos e cocos Gram-positivos pertencentes a 35 espécies, sendo *Hafnia alvei* e *Staphylococcus sciuri*, os mais prevalentes, respectivamente (SELVIN et al., 2019). Na Polônia, foram 48,7% (38/78) isolados resistentes de *Escherichia coli*, a pelo menos um antimicrobiano e dois isolados produziram *ESBLs* (NOWAKIEWICZ et al., 2020a). Já na Nigéria, também em estudo com isolados de *E. coli*, foram detectadas proporções de 20% a 48,6% de resistência as drogas ampicilina, tetraciclina e sulfametoxazol/trimetoprim (OBODOECHI et al., 2021). Na Austrália, 3,8% (12/318) de *E. coli* apresentaram genes de resistência à  $\beta$ -lactamases, como *bla*TEM-1B à amoxicilina/clavulanato e ampicilina, essas foram isoladas de fezes da espécie *Pteropus poliocephalus* (morcego raposa-voadora) de vida selvagem ou cativos (MCDUGALL; BOARDMAN; POWER, 2021a). E na Argélia, Gharout-Sait et al. (2019) foram os únicos a observar cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de carpapenemase com origem em guano, genes *bla*OXA-48 e *bla*KPC-3.

Em morcegos do novo mundo, Peru, em 2018, focado em isolados de *E. coli* produtores de *ESBLs* em animais de produção e morcegos vampiros, foram observados isolados resistentes ou sensíveis com aumento de exposição à maior parte dos  $\beta$ -lactâmicos, exceto imipenem e ertapenem, e também obtiveram detecção do gene de resistência *bla*CTX-M-15, nos cinco isolados de *swabs* fecais de morcegos vampiros. Em 2022, também no Peru e em morcegos vampiros, outros isolados de *E. coli* foram produtores de *ESBLs*, onde estes carregavam em média onze genes de resistência diferentes (BENAVIDES et al., 2018; BENAVIDES et al., 2022).

Os estudos relatando resistência em cocos Gram-positivos de morcegos são escassos, alguns destes, como na Espanha onde foi isolado *Staphylococcus* sp. resistente à eritromicina e à estreptomicina (GARCÍA et al., 2020). E um único estudo a relatar resistência em bacilos Gram-positivos, *Bacillus cereus* e *Bacillus anthracis*, à penicilina e à cefoxitina (SELVIN et al., 2019). No que concerne ao isolamento de *Enterococcus* sp. resistentes em morcegos, há relato de isolados de guano de morcegos *T. brasiliensis* do sul do Brasil, em que 41,1% (30/73) foram resistentes a pelo menos um antimicrobiano (COSTA et al., 2018). E na Polônia, NOWAKIEWICZ et al. (2020b) que observam 47,2% de resistência à pelo menos um antibiótico, em isolados *E. faecalis* de guano de morcegos insetívoros.

Os morcegos têm um intestino expressivamente de mais curto que outros mamíferos de pequeno porte, e algumas espécies não possuem algumas partes (por exemplo, cólon), o que reduz o tempo de digestão dos alimentos, e juntamente com sua adaptação às altas variações de temperatura (~ 40 °C) e taxas metabólicas necessárias durante voos, o ambiente da microbiota intestinal dos morcegos é bastante diferente, com uma população menor de bactérias anaeróbias residentes e um número maior de micróbios transitórios. Isso poderia explicar como a microbiota intestinal pode fazer sua própria “seleção” de microrganismos, que podem resistir naquele ambiente. Um estudo recente (POPOV et al., 2021) estabeleceu que o intestino do morcego (bactérias lácticas e bacilos) expressa características pró-mutagênicas e antioxidantes ao mesmo tempo, gerando uma resposta antiviral única, de modo que os morcegos possam equilibrar seu próprio sistema imunológico, para ser lento, mas eficiente, para responder e sobreviver a infecções, seja resistindo e/ou tolerando-os, especialmente vírus mortais (BROOK; DOBSON, 2015; WEINBERG; YOVEL, 2022).

Morcegos, principalmente de áreas urbanas, peri-urbanas e rurais, podem atuar como reservatório de bactérias potencialmente patogênicas. Enquanto que grande parte das atividades de pesquisa são focadas em patógenos virais, a prevalência de bactérias potencialmente patogênicas em morcegos e seu impacto na saúde têm sido subestimados, inclusive no Brasil (DIMKIĆ et al., 2021; MÜHLDORFER, 2013). Até o momento, não havia relatos sobre diversidade bacteriana da microbiota do trato gastrointestinal, utilizando amostras de swabs e de guano, nem de AMR em bactérias isoladas destes animais.

A abordagem *One Health* ou Saúde Única que prega a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental é fundamental para gerenciar os riscos do surgimento de patógenos zoonóticos. Maior investimento em pesquisas sobre o microbioma de animais silvestres e sinantrópicos, como os morcegos, deve ser priorizado, abrangendo todas as regiões do Brasil, bem como, a implementação de políticas de conservação desses animais, buscando manter o equilíbrio necessário nos habitats e ecossistemas naturais (CIBULSKI; LIMA; ROEHE, 2020).

### 3 HIPÓTESES

1. A diversidade da microbiota oral, retal e de guano de quirópteros no estado do Ceará é composta em maior prevalência por bacilos Gram-negativos.

2. Quirópteros do estado do Ceará albergam bactérias resistentes aos antimicrobianos.

3. Bacilos Gram-negativos de quirópteros tem maior percentual de resistência a antimicrobianos que Cocos Gram-positivos.

## **4 OBJETIVO GERAL/ OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

### **4.1 Objetivo Geral**

Isolar e identificar bactérias de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, Ceará, e avaliá-las quanto à sensibilidade antimicrobiana.

### **4.2 Objetivos Específicos**

1. Isolar e identificar bactérias da cavidade oral, do reto e de guano de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza;
2. Avaliar a sensibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas frente a diferentes classes de drogas, de acordo com grupo / gênero bacteriano e recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

## 5 METODOLOGIA

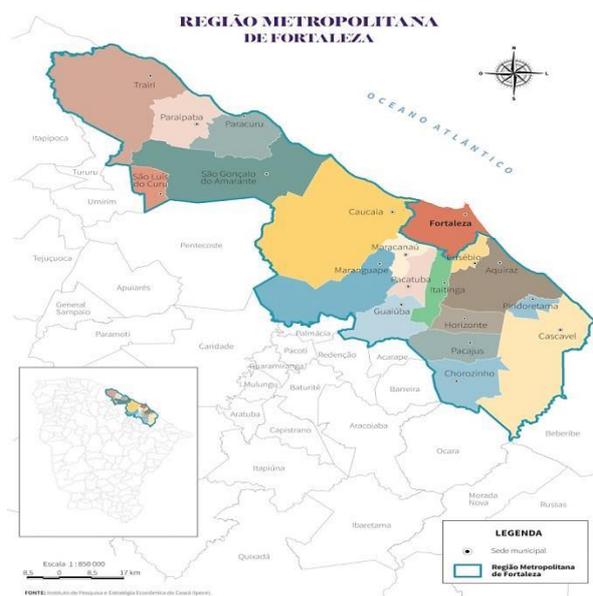
### 5.1 Aspectos éticos e licença ambiental

Previamente ao início da pesquisa, o projeto foi submetido à apreciação pelo SISBio/ICMBio e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (UFC), sendo aprovado, e os documentos foram concedidos com os seguintes números: 76351 e 4291150121, respectivamente.

### 5.2 Região Metropolitana de Fortaleza

A Região Metropolitana de Fortaleza (RMF), também chamada de “Grande Fortaleza” (Figura 3), está localizada na região nordeste do Brasil, estado do Ceará, e é formada por 19 municípios, além de Fortaleza (capital do estado), Caucaia, Maracanaú e Maranguape são os municípios com as maiores populações, ao total a RMF tem população estimada de pouco mais de quatro milhões e cem mil habitantes.

Figura 3 – Mapa da Região Metropolitana de Fortaleza



Fonte: <https://www.anuariodoceara.com.br/regiao-metropolitana-de-fortaleza>, 2022

O clima em geral é considerado tropical semiúmido, e por definição tem dois padrões, chuvoso e seco. E está inserido no bioma caatinga. O primeiro geralmente se estende de janeiro à julho, e o segundo de agosto à dezembro. As temperaturas médias anuais vão de 25 a 28°C (IPECE, 2022; ROCHA et al., 2020).

### 5.3 Locais de coleta, animais capturados e amostras

As coletas foram realizadas por médicos veterinários, com o apoio técnico de profissionais da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará (ADAGRI). Os animais foram capturados em diferentes abrigos artificiais (Figura 4), na Região Metropolitana de Fortaleza, em três municípios, Pacatuba, Itaitinga e Maranguape (Quadro 1), nos anos de 2021 e 2022, com o auxílio de puçá, gaiola (Figura 5) e rede de neblina. Após a captura, os animais foram submetidos à coleta de material com auxílio de *swabs* estéreis (Figura 6), de nylon e rayon (adaptado), de orofaringe e reto, respectivamente. Quanto as amostras de guano (Figura 7), as mesmas foram coletadas dos abrigos onde encontravam-se os animais.

Figura 4 - Locais de captura dos morcegos



Fonte: Elaborada pela autora, 2022. (A) Pacatuba, (B) Maranguape, (C) Itaitinga

Quadro 1 – Locais de captura dos morcegos e coleta das amostras

Cidade	Tipo de locação	Clima / Mês / Ano	Coordenadas
--------	-----------------	-------------------	-------------

Pacatuba	Construção abandonada	Seco / Novembro / 2021	S 3°59'19.6332" W 38°37'17.778"
Itaitinga	Casa abandonada	Chuvoso / Abril / 2022	S 3°56'35.3688" W 38°33'19.746"
	Depósito e sala abandonada	Chuvoso / Abril / 2022	S 3°56'53.4048" W 38°33'32.706"
Maranguape	Casa pouco utilizada	Chuvoso (1ª coleta) / Junho / 2022	S 3°59'16.638" W 38°48'10.188"
		Seco (2ª coleta) / Julho / 2022	

Figura 5 – Materiais utilizados na captura dos morcegos



Fonte: Elaborada pela autora, 2022. (A) Puçá, (B) Gaiola

Figura 6 – Coleta de swabs em morcego da espécie *Demodus rotundus*



Fonte: Elaborada pela autora, 2022. Oral (A), Retal (B)

Figura 7 – Aspecto de guano em camadas, coletado de colônia de morcego onívoro



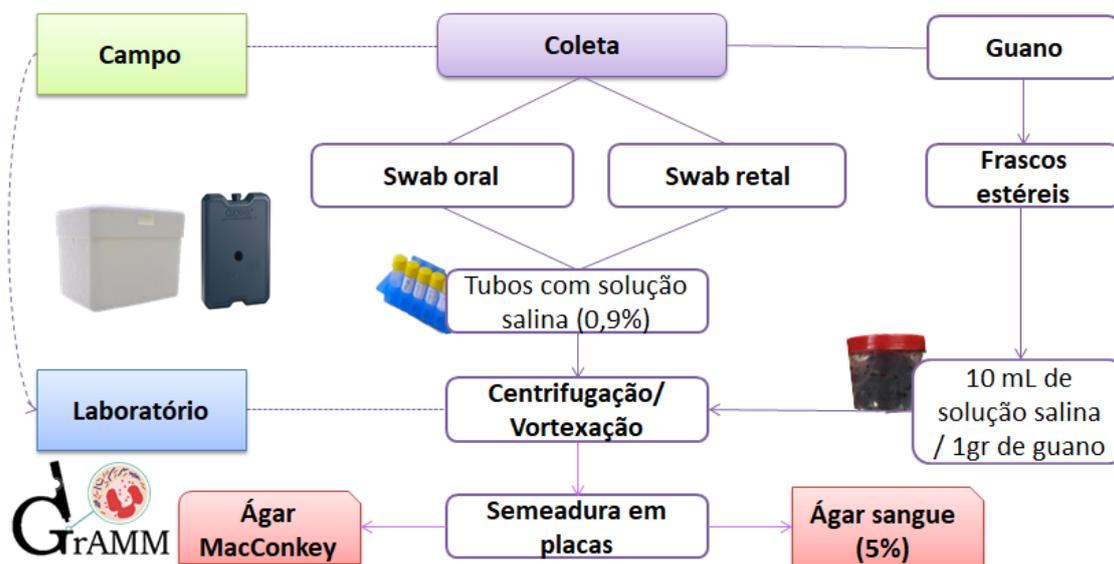
Fonte: Elaborada pela autora, 2022

Os animais foram identificados, à nível de espécie ou gênero, morfológicamente, por médico veterinário e biólogo, e baseado em chaves de identificação da literatura de morcegos do Brasil (dos REIS et al., 2007).

#### **5.4 Isolamento e identificação bacteriana**

As amostras de *swabs* de orofaringe e retais após coletadas (Figura 8) foram transportadas em microtubos contendo 2 mL (primeira coleta) e 0,5 mL (demais coletas) de solução salina (0.9%), e as amostras de guano foram transportadas em tubos secos estéreis, todas refrigeradas em recipiente até a chegada ao laboratório de Bacteriologia do Grupo Aplicado em Microbiologia Médica (GrAMM), localizado no departamento de Patologia e Medicina legal, da Universidade Federal do Ceará (UFC), na cidade de Fortaleza. As amostras de *swabs* (oral e retal), passaram por centrifugação (primeira e segunda coletas) à 3000 rpm por dez minutos, ou agitação em vórtex (terceira e quarta coletas). Para o processamento do guano, foi feita a proporção de 10mL de solução salina (0.9%) para 1 grama de fezes, e os mesmos processos de centrifugação ou vortexação, citados anteriormente. Todas as amostras tiveram o sobrenadante semeado por esgotamento, com auxílio de alças bacteriológicas de 10 $\mu$ l, em duas placas de Petri, cada uma contendo um meio de cultura diferente, sendo estes, ágar MacConkey e ágar sangue (5%) com base Columbia.

Figura 8 – Fluxograma de coleta e processamento primário das amostras



Fonte: Elaborada pela autora, 2022

Em seguida, as placas foram incubadas a 35 °C, por até 48h, em estufa bacteriológica, em aerobiose (MacConkey) para crescimento exclusivo de Gram-negativas, ou em jarra de microaerofilia (Ágar sangue) para obtenção de bactérias Gram-positivas (aeróbias facultativas e anaeróbias), e possível visualização de padrões de hemólise das mesmas.

Após o tempo de incubação, foi verificada a pureza dos isolados. Em casos de crescimento de colônias mistas, os microrganismos foram reisolados em novas placas e estocados em meio mínimo, para avaliação posterior. Em seguida, as colônias isoladas foram avaliadas quanto à afinidade tintorial, à morfologia e ao arranjo. As bactérias Gram-negativas foram triadas para a produção da enzima citocromo oxidase, enquanto que as Gram positivas foram triadas quanto à produção da enzima catalase.

Os bacilos Gram-negativos não produtores da enzima citocromo oxidase, sugestivos de bacilos da ordem Enterobacterales foram submetidos a uma série de provas bioquímicas para identificação, nos meios *Triple Sugar Iron* (TSI), Citrato de Simmons, ágar ureia de Christensen, fenilalanina desaminase (PAD), sulfeto de hidrogênio, indol e motilidade (SIM), Voges-Proskauer (VP), descarboxilação da lisina e ornitina, com leituras após 18h à 24h de incubação em estufa, através de chaves de identificação elencadas por Koneman et al. p.231 (2018), por exemplo, com visualização de reações como mudança de cor, sem ou com adição de

reagentes (Kovacs para indol, Cloreto férrico para PAD, e  $\alpha$ -naftol mais hidróxido de potássio para VP), entre outras características inerentes à cada espécie (KONEMAN et al., 2018).

Os bacilos Gram-negativos que não puderam ser identificados manualmente, incluindo todos os produtores da enzima citocromo oxidase, e os cocos Gram-positivos, após avaliação da produção da enzima catalase, foram identificados pelo sistema automatizado MicroScan WalkAway®, que realiza diversas provas bioquímicas específicas para identificação de bacilos Gram-negativos e de cocos Gram-positivos. Sempre que necessário, provas bioquímicas adicionais foram realizadas para concluir a identificação das espécies. As bactérias que não puderam ser identificadas quanto à espécie por métodos bioquímicos foram classificadas quanto ao gênero, com base nas características morfológicas, tintoriais e bioquímicas.

### **5.5 Avaliação da sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos**

O número de isolados avaliados quanto à sensibilidade antimicrobiana foi de 134 bacilos Gram-negativos, e 55 cocos Gram-positivos, num total de 189 bactérias. A sensibilidade dos isolados Gram-negativos, pertencentes a ordem *Enterobacterales*, foi avaliada por meio do método de disco-difusão em ágar Müeller-Hinton (MH), segundo metodologia preconizada pelo documento M100 do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2021). O protocolo inclui inóculos bacterianos padronizados na escala de 0,5 McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) suspensas em salina estéril, e semeadas com auxílio de *swabs* estéreis sobre toda a superfície em placas com ágar MH. Em seguida, os discos de antimicrobianos foram colocados sobre a superfície do ágar, com auxílio de pinças estéreis, e as placas incubadas a 35°C, por 16 à 18h. As drogas antimicrobianas, e suas respectivas concentrações ( $\mu\text{g}$ ), foram escolhidas de acordo com as recomendações do CLSI, a saber: Ampicilina (10  $\mu\text{g}$ ), Cefalotina (30  $\mu\text{g}$ ), Gentamicina (10  $\mu\text{g}$ ), amoxicilina/clavulanato (20/10  $\mu\text{g}$ ), Cefepime (30  $\mu\text{g}$ ), Ceftriaxona (30  $\mu\text{g}$ ), Cefuroxima (30  $\mu\text{g}$ ), Meropenem (10  $\mu\text{g}$ ), Ciprofloxacina (5  $\mu\text{g}$ ), Sulfametoxazol/trimetoprim (1,25/23,75  $\mu\text{g}$ ), Tetraciclina (30  $\mu\text{g}$ ) e Cloranfenicol (30  $\mu\text{g}$ ). As classes de antibióticos abrangidas foram, penicilina, agentes combinados: penicilina + inibidor de  $\beta$ -lactamase, aminoglicosídeo,

carbapenêmico, cefalosporinas de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações, fluorquinolona, antagonistas do ácido fólico, tetraciclina, e afenicol, respectivamente.

Após o período de incubação, o diâmetro das zonas de inibição foram medidos em milímetros (mm) e as cepas foram classificadas como sensíveis, sensíveis aumentando de exposição ou resistentes, de acordo com os pontos de corte clínicos do CLSI. Além disso, como controle de qualidade dos discos de antimicrobianos, foi incluída a cepa de referência *Escherichia coli* ATCC 25922, cujos resultados foram interpretados de acordo com o CLSI (2021).

Os microrganismos que foram identificados pelo sistema automatizado MicroScan WalkAway®, também foram submetidos à avaliação da sensibilidade antimicrobiana pelo painel do equipamento. A técnica utilizada pelo equipamento é a de microdiluição, permitindo a identificação das concentrações inibitórias mínimas (CIMs), as quais, por sua vez, permitiram classificar as cepas em sensíveis, sensíveis com aumento de exposição, ou resistentes, utilizando o CLSI como referência. Quando o CLSI não preconizava o uso ou os pontos de corte para interpretação de um dado antimicrobiano, os documentos do Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos (BrCAST, 2022) foram utilizados como referência.

Quanto aos Gram-negativos identificados pelo sistema, além das classes de drogas citadas para o método de disco-difusão, foram testadas pelo sistema as seguintes drogas e / ou classes, em concentração [µg/mL], de acordo com as indicações para o grupo / gênero bacteriano avaliado (Quadro 2), aminoglicosídeo (Amicacina), monobactâmico (Aztreonam), agentes combinados: penicilina + inibidor de β-lactamase (Piperacilina/tazobactam), e fluorquinolona (Levofloxacin).

Quadro 2 – Drogas selecionadas para avaliação da sensibilidade antimicrobiana de bacilos Gram-negativos por microdiluição em painel do MicroScan WalkAway®

<b>Droga</b>	<b>Concentração</b>	<b>Grupo/ gênero bacteriano avaliado</b>
Ampicilina	2-8 µg/mL	Enterobacterales
Amoxicilina/ clavulanato	2-8 µg/mL	Enterobacterales
Gentamicina	2-4 µg/mL	Enterobacterales; Complexo <i>Aeromonas veronii</i>
Cefuroxima	4-8 µg/mL	Enterobacterales

Cefotaxima	1-16 µg/mL	Enterobacterales
Cefepime	1-8 µg/mL	Enterobacterales; <i>Pseudomonas</i> ; Complexo <i>Aeromonas veronii</i>
Meropenem	0,12-8 µg/mL	Enterobacterales; <i>Pseudomonas</i> ; <i>Acinetobacter</i> ; Complexo <i>Aeromonas veronii</i>
Ciprofloxacina	0,25-1 µg/mL	Enterobacterales; <i>Pseudomonas</i> ; Complexo <i>Aeromonas veronii</i>
Sulfametoxazol/ trimetoprim	2/38-4/76 µg/mL	Enterobacterales; <i>Acinetobacter</i> ; <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ; Complexo <i>Aeromonas veronii</i>
Tetraciclina	8 µg/mL	Enterobacterales
Cloranfenicol	8 µg/mL	Enterobacterales
Piperacilina/ tazobactam	4/4-16/4 µg/mL	<i>Pseudomonas</i> ; Complexo <i>Aeromonas veronii</i>
Amicacina	2-8 µg/mL	<i>Acinetobacter</i> ; <i>Pseudomonas</i> ;
Aztreonam	1-4 µg/mL	<i>Pseudomonas</i> ; <i>Acinetobacter</i> ; Complexo <i>Aeromonas veronii</i>
Levofloxacina	0,5-1 µg/mL	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

Para os Cocos Gram-positivos foram consideradas as seguintes drogas (Quadro 3) de diferentes classes de antimicrobianos, que têm relevância de uso clínico no Brasil (BrCAST, 2022), em concentração [µg/mL], de acordo com as indicações para o gênero bacteriano avaliado.

Quadro 3 – Drogas selecionadas para avaliação da sensibilidade antimicrobiana de cocos Gram-positivos por microdiluição em painel do MicroScan WalkAway®

<b>Droga</b>	<b>Concentração</b>	<b>Gênero bacteriano avaliado</b>
Penicilina	0,12-6 µg/mL	<i>Staphylococcus</i>
Ampicilina	2-8 µg/mL	<i>Staphylococcus</i> ; <i>Enterococcus</i>
Amoxicilina/ clavulanato	4/2 µg/mL	<i>Staphylococcus</i> ; <i>Enterococcus</i>
Oxacilina	0,5-2 µg/mL	<i>Staphylococcus</i>
Ciprofloxacina	1-2 µg/mL	<i>Staphylococcus</i> ; <i>Enterococcus</i>
Ceftriaxona	6-32 µg/mL	<i>Staphylococcus</i>
Gentamicina	1-8 µg/mL	<i>Staphylococcus</i>

Gentamicina de alto nível	500 µg/mL	<i>Enterococcus</i>
Vancomicina	0,25-16 µg/mL	<i>Staphylococcus</i> ; <i>Enterococcus</i>
Eritromicina	0.5-4 µg/mL	<i>Staphylococcus</i> ; <i>Enterococcus</i>
Clindamicina	0,25-4 µg/mL	<i>Staphylococcus</i>
Tetraciclina	2-8 µg/mL	<i>Staphylococcus</i> ; <i>Enterococcus</i>
Sulfametoxazol/ trimetoprim	0,5/9,5-2/38 µg/mL	<i>Staphylococcus</i>

## 5.6 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas por métodos paramétricos, primeiramente pelo teste do qui-quadrado, para analisar as frequências das espécies bacterianas, das espécies de morcegos, dos hábitos alimentares, dos locais de coleta e dos sítios das amostras. O teste exato de Fisher avaliou as frequências de isolados sensíveis e não sensíveis (junção de resistentes com sensíveis com aumento de exposição), de acordo com os grupos de dados avaliados, com pelo menos 3 exemplares ( $n \geq 3$ ), espécies de morcegos, espécies bacterianas, agrupamento bacteriano, sexo do animal, hábito alimentar, local da coleta, sítio da amostra, e clima. Além disso comparar os percentuais de resistência entre Gram-negativos e Gram-positivos, e entre as drogas antimicrobianas. O nível de significância foi de 5% para as hipóteses testadas, com análise realizada em software GraphPad Prism 7.0.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Animais Capturados e submetidos à coleta

Os animais (n=51) foram capturados na Região Metropolitana de Fortaleza, em três municípios, Pacatuba (n=18), Itaitinga (n=10) e Maranguape (n=23), dos quais obtiveram-se *swabs* de orofaringe e retal, totalizando 113 amostras para identificação de bactérias (101 de *swabs* e 16 de guano). Amostras de guano foram coletadas do chão dos abrigos onde as colônias de morcegos se encontravam, sendo quatro em Pacatuba, duas de camadas superficiais e duas de camadas profundas, três amostras de fezes secas de Itaitinga e cinco de Maranguape, duas de camadas superficiais e três de profundas. Quanto ao sexo dos animais, 53% (27/51) machos, e 47% (24/51) eram fêmeas. Indivíduos jovens e/ou fêmeas prenhes/amamentando foram evitados.

Vinte e cinco animais foram identificados a nível de espécie, sendo nove espécies distintas, vinte e seis a nível de gênero, sendo quatro distintos (Quadro 4). A maioria dos animais (n=19) foi da família Phyllostomidae (*Carollia perspicillata*, *Carollia* sp., *Desmodus rotundus*, *Glossophaga soricina*, *Lonchorhina aurita*, *Phyllostomus hastatus*, *Phyllostomus discolor*, *Platyrrhinus recifinus*), seguida da Molossidae (n=16) (*Molossus* sp.), Emballonuridae (n=9) (*Peropteryx* sp. e *Saccopteryx* sp.), e Noctilionidae (n=7) (*Noctilio albiventris* e *Noctilio leporinus*), apresentando diversos hábitos alimentares / dieta, oito frugívoros, cinco hematófagos, trinta e quatro insetívoros, dois onívoros, um nectarívoro e um piscívoro.

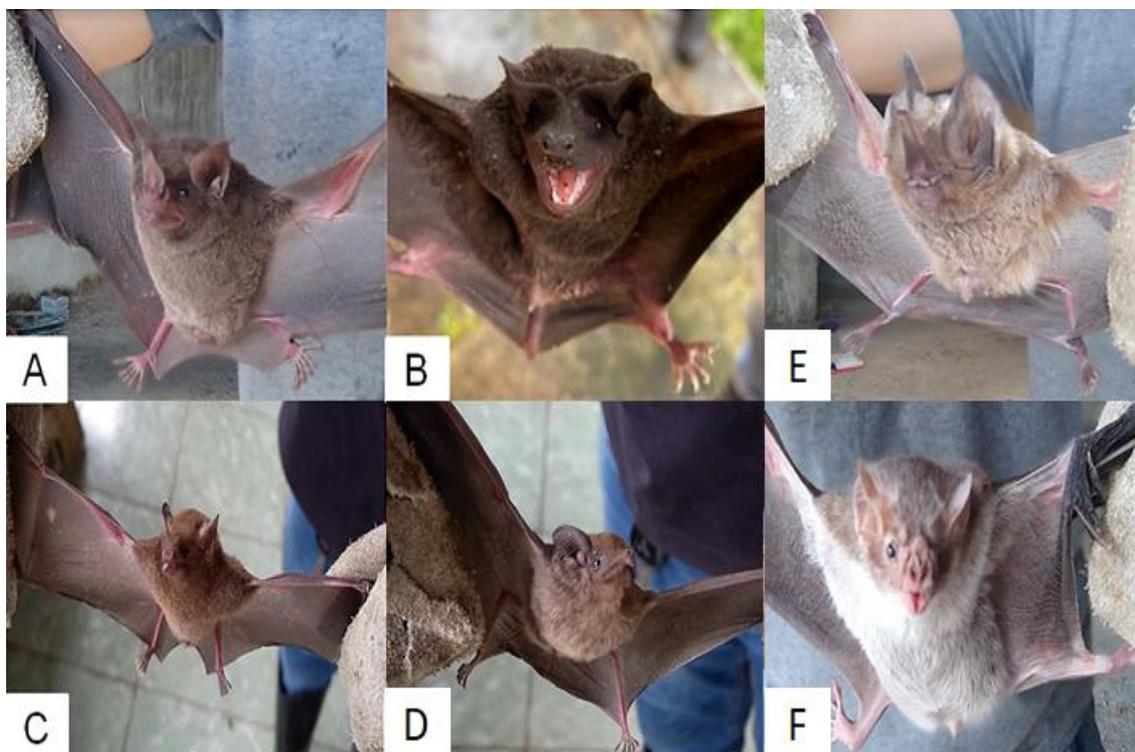
Quadro 4 – Diversidade de espécies dos morcegos capturados para a coleta de amostras

Família	Subfamília	Espécies	Nome comum	Alimentação	Local de coleta	N
Phyllostomidae	Carollinae	<i>Carollia perspicillata</i>	Morcego-de-cauda-curta	Frugívoro	PA, IT	5
		<i>Carollia</i> sp.	-	Frugívoro	PA	1
	Desmodontinae	<i>Desmodus rotundus</i>	Morcego-vampiro	Hematófago	PA	5
	Glossophaginae	<i>Glossophaga soricina</i>	Morcego-beija-flor	Nectarívoro	IT	1

	<i>Phyllostominae</i>	<i>Lonchorhina aurita</i>	Common Sword-nosed Bat	Insetívoro	PA	3
		<i>Phyllostomus hastatus</i>	-	Onívoro	PA	1
		<i>Phyllostomus discolor</i>	-	Onívoro	PA	1
	<i>Stenodermatinae</i>	<i>Platyrrhinus recifinus</i>	-	Frugívoro	PA	2
<i>Molossidae</i>		<i>Molossus</i> sp.	Morcego-de-cauda-grossa	Insetívoro	MA	16
<i>Noctilionidae</i>		<i>Noctilio albiventris</i>	Morcego-bulldog	Insetívoro	MA	6
		<i>Noctilio leporinus</i>	Morcego pescador	Piscívoro	MA	1
<i>Emballonuridae</i>		<i>Peropteryx</i> sp.	-	Insetívoro	PA, IT	8
		<i>Saccopteryx</i> sp.	-	Insetívoro	IT	1
<b>Total</b>		12		6	3	51

IT: Itaitinga. MA: Maranguape. PA: Pacatuba. N: número de animais

Figura 9 – Exemplos de espécies de morcegos capturadas e coletadas



Fonte: Elaborada pela autora, 2022. *Carollia perspicillata* (A), *Molossus* sp. (B), *Glossophaga soricina* (C), *Peropteryx* sp. (D), *Lonchorhina aurita* (E), *Desmodus rotundus* (F)

## 6.2 Isolamento Bacteriano dos Morcegos

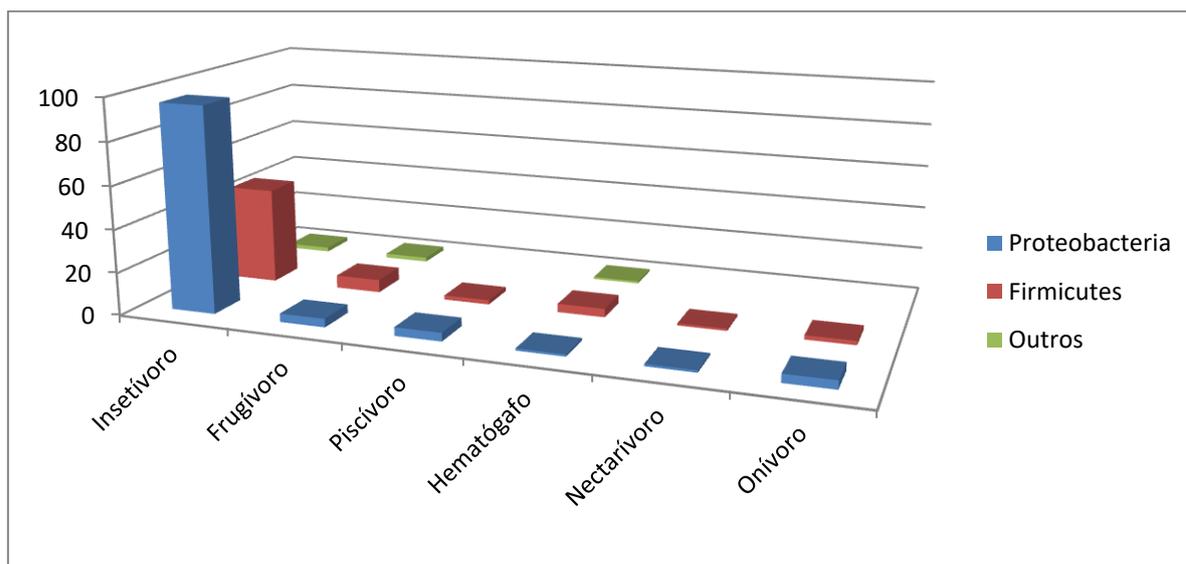
Foi possível isolar bactérias de 100% 51/51 dos animais, com isolamento em pelo menos um sítio (oral ou retal). Dentre os animais 51% (26/51) tiveram isolados em ambos os sítios, 49% (25/51) em um só sítio, destes 88% (22/25) só sítio oral, e 12% (3/25) só retal. A distribuição dos isolados em relação ao hábito alimentar dos animais, aconteceu da seguinte forma, 58,8% (20/34) dos insetívoros apresentaram isolados nos dois sítios, 35,3% (12/34) só oral, e 5,9% (2/34) só retal; dos frugívoros, 62,5% (5/8) apresentaram isolados apenas na cavidade oral e 37,5% (3/8) nos dois sítios; dos hematófagos apenas 20% (1/5) teve isolados nos dois sítios, 60% (3/5) só tinham isolados orais e 20% (1/5) só retal; dos onívoros (2/2) nos dois sítios; do piscívoro (1/1), e do nectarívoro (1/1), isolados nos dois sítios, cada.

No tocante a distribuição dos isolados por espécie / gênero de morcego, 87,5% (14/16) de *Molossus* sp. tiveram isolados dos dois sítios (oral e retal), e 12,5% (2/16) só do sítio oral; de *Peropteryx* sp. 75% (6/8) só de sítio oral, e 25% (2/8) de ambos os sítios; de *Saccopteryx* sp. 100% (1/1) só retal; de *C. perspicillata* 60% (3/5) só oral e 40% (2/5) ambos sítios; de *L. aurita* 66,7% (2/3) só oral e 33,3% (1/3) só retal; de *P. hastatus* e *P. discolor*, onívoros, (2/2) isolados de ambos os sítios; de *N. albiventris* (4/6) com isolados dos dois sítios, e (2/6) ao sítio oral; de *Carollia* sp. (1/1) isolados só de sítio oral; e das espécies de *N. leporinus* única de piscívoro, *D. rotundus* única de hematófago, e *G. soricina* de única de nectarívoro, tiveram as mesmas distribuições mencionadas no parágrafo anterior. Além disso, 78,4% (40/51) animais apresentaram mais de uma espécie bacteriana isolada (sítio oral e / ou retal), destes, 25% (10/40) mais de uma espécie em ambos sítios, 52,5 % (21/40) mais de uma espécie no sítio oral, 10% (4/40) mais de espécie no sítio retal e 12,5% (5/40) uma espécie diferente em cada sítio. E por fim, 21,6% (11/51) apresentaram apenas uma espécie bacteriana, destes 81,8% (9/11) só no sítio oral, e 12,8% (2/11) só no retal.

Quanto à colonização oral e retal (*swabs*) dos animais por filo bacteriano (Gráfico 1), insetívoros tiveram um total de cento e quarenta e três isolados, distribuídos em Proteobacteria (67,1%; 96/143), Firmicutes (31,5%; 45/143), Actinobacteria (0,7%; 1/143), e Bacteroidetes (0,7%; 1/143). Frugívoros doze isolados, de três filas, Proteobacteria (33,3%; 4/12), Firmicutes (50%; 6/12), e Actinobacteria (16,7%; 2/12). Hematófagos seis isolados de três filas, Firmicutes

(66,6%; 4/6), Proteobacteria (14,3%; 1/6), e Actinobacteria (14,3%; 1/6). Piscívoros, seis isolados de dois filios, Proteobacteria (66,7%; 4/6) e Firmicutes (33,3%; 2/6). Onívoros seis isolados, de dois filios, Proteobacteria (66,7%; 4/6), e Firmicutes (33,3%; 2/6). E Nectarívoro dois isolados, um de Proteobacteria e um de Firmicutes.

Gráfico 1 – Colonização da microbiota gastrointestinal (*swabs* oral e retal) de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE, por filo bacteriano e hábito alimentar

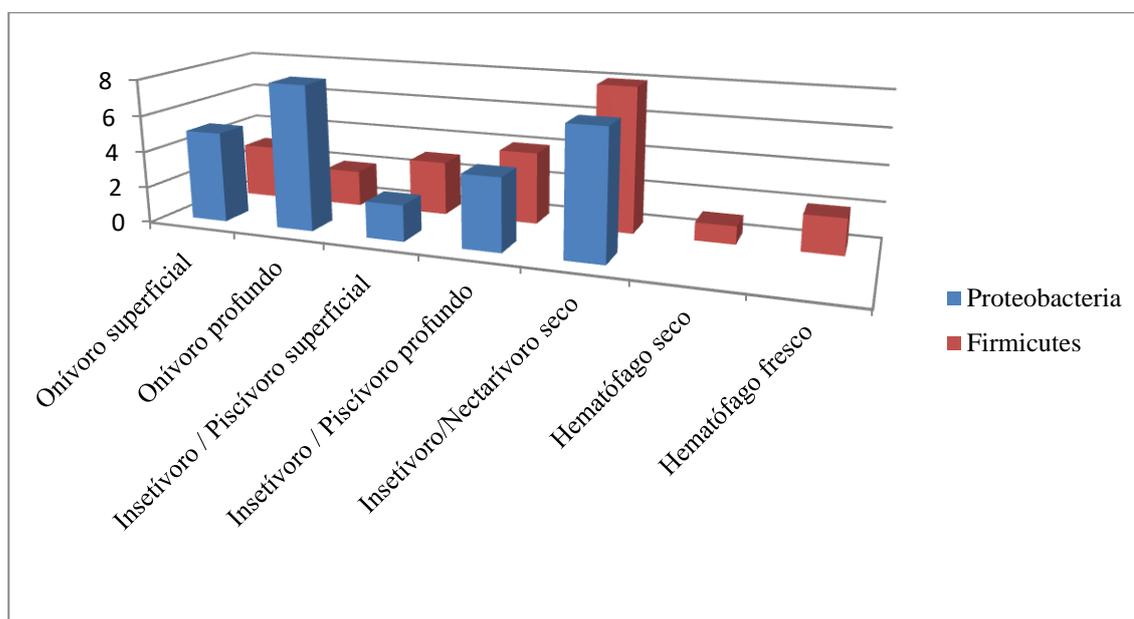


Eixo vertical: Abundância do número de isolados por filo bacteriano. Eixo horizontal: Hábito alimentar dos morcegos. Outros: Bacteroidetes (insetívoro) e Actinobacteria (dois de frugívoro, um de hematófago e um de insetívoro)

Um total de 49 isolados provenientes de amostras de guano foram identificados, distribuídos em 36,7% (18/49) de amostras profundas, 32,7% (16/49) de amostras secas, 26,5% (13/49) de amostras superficiais, e 4,1% (2/49) de amostras frescas. Destes (Gráfico 2), os de colônias de onívoro (*P. hastatus*), tiveram 36,7% (18/49) do total de isolados, onde 44,4% (8/18) foram de amostras superficiais e 55,6% (10/18) de profunda. O guano de hematófago 6,1% (3/49), (2 isolados de guano fresco e 1 de seco). Dentre os isolados do guano de colônia mista (insetívoro / nectarívoro) 30,6% (15/49) somente de guano seco. Já da colônia mista (piscívoro / insetívoro) obteve-se 26,5% (13/49) do total, com origem de amostras superficiais foram 38,5% (5/13), e de profundas 61,5% (8/13). Ademais, 75% (12/16) das amostras de guano apresentaram mais de uma espécie bacteriana isolada, 18,7% (3/16) apenas uma espécie, e 6,3% (1/16) nenhum isolado identificado (guano seco).

Quanto aos filos detectados nos isolados de guano (Gráfico 2), dois filos Firmicutes e Proteobacteria foram presentes. A distribuição ocorreu da forma seguinte, colônia de onívoro com Proteobacteria (88,9%; 13/18), e Firmicutes (11,1%; 5/18), sendo de Proteobacteria 61,5% (8/13) de camadas profundas, e 38,5% (5/13) de superficiais; e Firmicutes 60% (3/5) de superficiais, e 40% (2/5) profundas. Colônia de hematófago apenas Firmicutes (100%; 3/3), sendo (2/3) de guano fresco e (1/3) de guano seco. Colônia insetívoro / nectarívoro, Proteobacteria (46,7%; 7/15) seguida de Firmicutes (53,3%; 8/15). E colônia mista de insetívoro / piscívoro com Proteobacteria (46,2%; 6/13) seguido de Firmicutes (53,8%; 7/13), sendo de Proteobacteria, 66,7% (4/6) de camadas profundas, e 33,5% (2/6) de camadas superficiais; e de Firmicutes 57,1% (4/7) de profundas, e 42,9% (3/7) superficiais.

Gráfico 2 – Colonização do guano de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE, por filo bacteriano, hábito alimentar e aspecto do guano



Eixo vertical: Abundância do número de isolados por filo bacteriano. Eixo horizontal: Hábito alimentar da colônia e aspecto do guano

### 6.3 Identificação das bactérias isoladas

Foi possível isolar e identificar 135 bacilos Gram-negativos (BGN), 63 cocos Gram-positivos (CGP) e 24 bacilos Gram-positivos (BGP), totalizando 222

isolados bacterianos. Destes foram de 53,6% (119/222) *swab* oral, 24,3% (54/222) *swab* retal e 22,1% (49/222) guano. Apenas um animal da espécie *C. perspicillata* do qual, não foi possível identificar nenhum isolado.

Dentre os bacilos Gram-negativos (Quadro 5), o local de coleta com maior número de isolados foi Maranguape (63%; 85/135), seguido de Itaitinga (20,7%; 28/135) e de Pacatuba (16,3%; 22/135). Quanto ao sítio de coleta, 59,2% (80/135) foram isolados da orofaringe, 21,5% (31/135) do reto e 19,3% (28/135) do guano. Dentre os isolados, 82,2% (111/135) eram Enterobactelares, 9,6% (13/135) eram BGNNF e 8,1% (11/135) eram outros BGN. E ainda, dos Enterobactelares, 65,8% (73/111) eram da família Enterobacteriaceae, 15,3% (17/111) família Morganellaceae, 9,9% (11/111) família Yersiniaceae, 6,3% (7/111) família Erwiniaceae, 2,7% (3/111) família Hafniaceae. No geral, foram 38 espécies pertencentes a 20 gêneros. O gênero mais isolado foi *Enterobacter* representando (19,2%; 26/135) dos isolados, seguido por *Klebsiella* (18,5%; 25/135) e *Escherichia* (8,1%; 11/135). As espécies de morcego das quais maiores números de isolados foram obtidos foram *Molossus* sp. (42,2%; 57/135), seguido de *N. albiventris* (14,1%; 19/135) e *Peropteryx* sp. (11,1%; 15/135). No tocante ao sexo dos animais, 41,5% (56/135) dos isolados foram obtidos de machos e 39,3% (53/135) de fêmeas.

Figura 10 – Bateria de testes bioquímicos para detecção de Bacilos Gram-Negativos da ordem Enterobacterales



Fonte: Elaborada pela autora, 2022. TSI (A), citrato de Simmons (B), PAD (C), VP (D), SIM (E), ureia de Christensen (F), descarboxilase lisina (G), ornitina (H), e base (I)

Quadro 5 – Bacilos Gram-negativos isolados da microbiota de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE, por grupo bacteriano, sítio e município de coleta

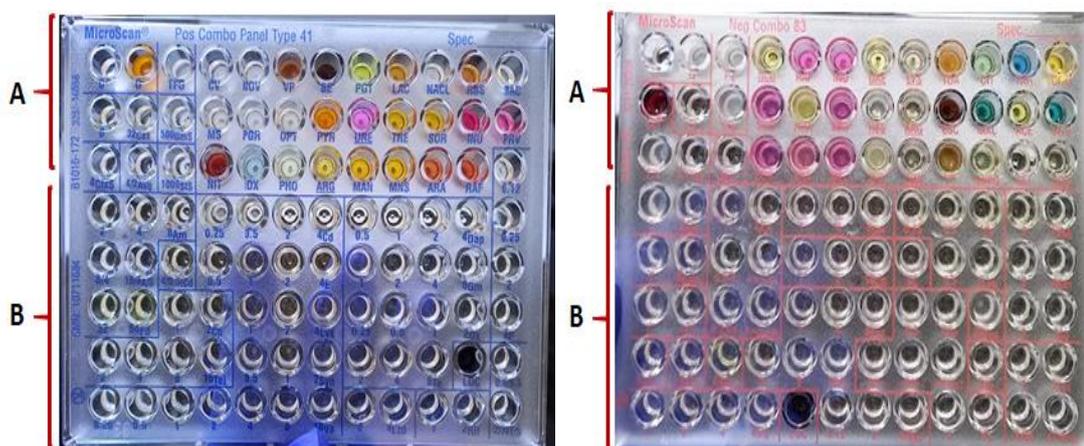
Ordem Enterobacterales	Sítio de coleta			Município de coleta			Total
	O	R	G	P	I	M	
<i>Cedecea lapagei</i>	1	1	-	1	1	-	2
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	-	-	-	-	1	1
<i>Citrobacter farmeri</i>	1	-	-	-	-	1	1
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	1	-	-	1	1
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1	1	1	-	2	1	3
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	-	-	-	-	1	1
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	1	-	-	-	-	1	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	11	4	3	5	7	6	18
<i>Enterobacter gergoviae</i>	2	1	-	-	1	2	3
<i>Escherichia albertii</i>	-	1	-	-	-	1	1
<i>Escherichia coli</i>	1	1	7	5	1	3	9
<i>Escherichia fergusonii</i>	1	-	-	-	-	1	1
<i>Ewingiella americana</i>	1	-	-	-	1	-	1
<i>Hafnia alvei</i>	2	1	-	-	-	3	3
<i>Klebsiella aerogenes</i>	6	1	1	-	1	7	8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	10	-	1	-	1	10	11
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	-	-	-	2	4	6
<i>Kluyvera ascorbata</i>	1	-	-	-	-	1	1
<i>Kluyvera intermedia</i>	1	1	-	1	-	1	2
<i>Morganella morganii</i>	2	1	1	-	-	4	4
<i>Pantoea agglomerans</i>	3	-	3	1	2	3	6
<i>Pantoea dispersa</i>	-	-	1	-	1	-	1
<i>Proteus mirabilis</i>	2	6	-	1	-	7	8
<i>Providencia alcalifaciens</i>	-	2	-	-	-	2	2
<i>Providencia heimbache</i>	-	1	-	-	-	1	1
<i>Providencia rettgeri</i>	-	-	1	-	-	1	1
<i>Providencia stuartii</i>	-	1	-	-	-	1	1
<i>Salmonella enterica ssp enterica</i>	-	1	-	-	1	-	1
<i>Serratia marcescens</i>	8	1	-	-	4	5	9
<i>Serratia rubidaea</i>	-	-	1	-	1	-	1
<i>Yokenella regensburgei</i>	-	2	-	2	-	-	2
<b>Total</b>	63	27	21	16	26	69	111
BGN Não-fermentadores	Sítio de coleta			Município de coleta			Total
	O	R	G	P	I	M	
<i>Acinetobacter baumannii/haemolyticus</i>	1	-	-	-	-	1	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	-	-	1	-	2	3
<i>Pseudomonas alcaligenes/pseudoalcaligenes</i>	1	-	-	-	1	-	1

<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	2	-	5	5	-	2	7
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	-	-	-	1	-	1
<b>Total</b>	8	-	5	6	2	5	13
<b>Outros</b>	Sítio de coleta			Município de coleta			Total
	O	R	G	P	I	M	
Complexo <i>Aeromonas veronii</i>	8	2	-	-	-	10	10
<i>Empedobacter brevis</i>	1	-	-	-	-	1	1
<b>Total</b>	9	2	-	-	-	11	11
<b>Total Geral</b>	80	29	26	22	28	85	135

O: Orofaringe. R: reto. G: guano. P: Pacatuba. I: Itaitinga. M: Maranguape. -:nenhum isolado.

Dentre os cocos Gram-positivos (Quadro 6) 41,3% (26/63) foram isolados da orofaringe, 30,1% (19/63) do reto e 28,6% (18/63) de guano. Quanto ao gênero, 58,7% (37/63) dos isolados eram *Staphylococcus* sp., 30,2% (19/63) *Enterococcus* sp., e o restante era representado por *Streptococcus* sp. e outros (11,1%; 7/63). As duas espécies mais isoladas foram *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus xylosum*, representando 22,2% (14/63), cada. O local de coleta com maior número isolados foi Maranguape (46%; 29/63), seguido de Pacatuba (33,3%; 21/63) e Itaitinga (20,6%; 13/63). A espécie de morcego da qual um maior número de isolados foi obtido foi *Molossus* sp. (31,7%; 20/63), seguida de *Peropteryx* sp. (7,9% 5/63), e *C. perspicillata* (6,3%; 4/63). Por fim, no tocante ao sexo, 38,1% (24/63) dos isolados foram obtidos de fêmeas e 33,3% (21/63) de machos.

Figura 11 – Painéis Walkaway® para detecção de bactérias Gram-positivas (esquerda), e Gram-negativas (direita), e sensibilidade antimicrobiana



Fonte: Elaborada pela autora, 2022. Testes bioquímicos (A), Testes de sensibilidade antimicrobiana (B)

Quadro 6 – Cocos Gram-positivos isolados da microbiota de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE, por grupo bacteriano, sítio e município de coleta

<b>Enterococcus</b>	Sítio de coleta			Município de coleta			<b>Total</b>
	O	R	G	P	I	M	
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	-	-	-	-	1	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	9	-	3	3	8	14
<i>Enterococcus faecium</i>	-	3	-	2	1	-	3
<i>Enterococcus gallinarum</i>	-	1	-	-	-	1	1
<b>Total</b>	6	13	-	5	4	10	19
<b>Staphylococcus</b>	Sítio de coleta			Município de coleta			<b>Total</b>
	O	R	G	P	I	M	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	-	-	-	-	1	1
<i>Staphylococcus</i> CoNs	4	1	3	6	-	2	8
<i>Staphylococcus cohnii-cohnii</i>	1	1	-	1	-	1	2
<i>Staphylococcus cohnii-urea</i>	2	-	-	-	-	2	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	1	-	-	-	1	1
<i>Staphylococcus schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	2	-	-	1	-	1	2
<i>Staphylococcus sciuri</i>	-	-	5	-	5	-	5
<i>Staphylococcus xylosus</i>	4	1	9	3	3	8	14
<i>Staphylococcus</i> sp.	2	-	-	1	-	1	2
<b>Total</b>	16	4	17	12	8	17	37
<b>Streptococcus</b>	Sítio de coleta			Município de coleta			<b>Total</b>
	O	R	G	P	I	M	
<i>Streptococcus dysgalactiae dysgalactiae</i>	-	1	-	-	-	1	1
<i>Streptococcus</i> $\beta$ -hemolítico	-	1	-	1	-	-	1
<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	-	-	1	-	-	1	1
<b>Total</b>	-	2	1	1	-	2	3
<b>Outros</b>	Sítio de coleta			Município de coleta			<b>Total</b>
	O	R	G	P	I	M	
<i>Leuconostoc</i> sp.	1	-	-	1	-	-	1
<i>Micrococcus</i> sp.	2	-	-	2	-	-	2
<i>Pediococcus</i> sp.	1	-	-	-	1	-	1
<b>Total</b>	4	-	-	3	1	-	4
<b>Total geral</b>	<b>26</b>	<b>19</b>	<b>18</b>	<b>21</b>	<b>13</b>	<b>29</b>	<b>63</b>

O: Orofaringe. R: reto. G: guano. P: Pacatuba. I: Itaitinga. M: Maranguape. CoNs: coagulase negativo. -:nenhum isolado.

Em relação aos bacilos Gram-positivos, vinte e quatro foram identificados, destes quatorze como *Bacillus* sp., e dez não apresentaram esporos e foram identificados por MALDI-TOF MS, a exemplo de: *Microbacterium*

*flavescens/laevaniformes*. No geral 58,3% (14/24) foram isolados da orofaringe, 20,8% (5/24) do reto e 20,8% (5/24) do guano. Quanto à sede do município, a maioria era de Maranguape 62,5% (15/24), seguida de Pacatuba 25% (6/24) e Itaitinga 12,5% (3/24). A sensibilidade antimicrobiana dos bacilos Gram-positivos (*Bacillus* sp.) não foi avaliada pois não há padronização segundo os documentos do CLSI / BRCAS para tais microrganismos.

#### 6.4 Sensibilidade antimicrobiana

No total o percentual global de resistência antimicrobiana, a pelo menos um antimicrobiano, encontrado no presente trabalho foi de 59,8% (113/189) somando os isolados de bacilos Gram-negativos e cocos Gram-positivos testados. Dos animais, 80,4% (41/51) apresentaram pelo menos um isolado resistente. Enquanto que 100% (15/15) das amostras de guano testadas, apresentaram pelo menos um isolado resistente. No que concerne o sítio de coleta, 48,7% (55/113) dos isolados resistentes foram de sítio oral, 23,9% (27/113) de sítio retal, e 27,4% (31/113) de guano. Não houve diferença estatística significativa entre isolados resistentes de Gram-negativos e Gram-positivos, nem por sítio de coleta ( $p>0,05$ ).

No tocante ao local de coleta, Maranguape obteve 60,2% (68/113) dos isolados resistentes, Itaitinga 20,3% (23/113), e Pacatuba 19,5% (22/113). Quanto à variação de clima 59,3% (67/113) foram isolados no chuvoso, e 40,7% (46/113) no clima seco. E ao sexo animal 34% (39/113) isolados do feminino, e 38% (43/113) do masculino (Tabela 1). Também não houve diferença estatística dos isolados resistentes em relação ao local de coleta, clima e sexo ( $P>0,05$ ).

Tabela 1 – Bactérias resistentes à antimicrobianos por local de coleta, espécie animal, hábito alimentar e sexo

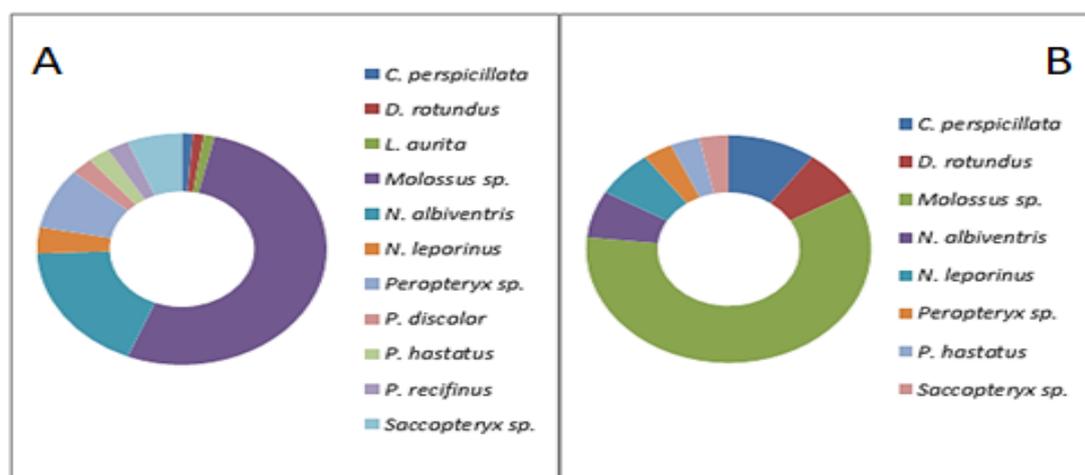
Categorias	Locais de coleta			Nr
	Pacatuba	Itaitinga	Maranguape	
Espécie/Colônia	<i>C. perspicillata</i> (3)	<i>C. perspicillata</i> (1)	<i>Molossus</i> sp. (44)	113
	<i>D. rotundus</i> (3)	<i>Peropteryx</i> sp. (3)	<i>N. albiventris</i> (14)	
	<i>P. discolor</i> (1)	<i>Saccopteryx</i> sp. (5)	<i>N. leporinus</i> (3)	
	<i>P. hastatus</i> (3)	Colônia mista <sup>2</sup> (14)	Colônia mista <sup>3</sup> (7)	
	<i>P. recifinus</i> (2)			
	Colônia hematófago (3)			
	Colônia onívoro (7)			
Alimentação	Frugívoro (5)	Frugívoro (1)	Insetívoro (58)	

	Hematófago (6)	Insetívoro (8)	Piscívoro (3)
	Onívoro (11)	Colônia mista <sup>2</sup> (14)	Colônia mista <sup>3</sup> (7)
<b>Sexo</b>	Fêmea (5)	Fêmea (3)	Fêmea (32)
	Macho (7)	Macho (6)	Macho (29)
	<sup>1</sup> (10)	<sup>1</sup> (14)	<sup>1</sup> (7)
<b>Total<sup>‡</sup></b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>68</b>

Nr: Número de isolados resistentes. <sup>1</sup> Isolados de guano. <sup>2</sup> Insetívoro e Nectarívoro. <sup>3</sup> Insetívoro e piscívoro. ‡ Total para cada local de coleta.

Considerando-se os isolados não sensíveis (INS), os quais apresentaram sensibilidade com aumento de exposição e / ou resistência a pelo menos um antimicrobiano, 78,3% (148/189) foi o percentual global, e 21,7% (41/90) foram totalmente sensíveis. Dos INS, 75,7% (112/148) foram isolados de swabs (oral ou retal), sendo 82 BGN e 30 CGP. E 24,3% (36/148) isolados de guano, 19 BGN e 17 CGP. Animais com pelo menos um INS foram 92,1% (47/51), e todos os tipos de guano tiveram pelo menos um INS. As espécies de morcegos com maior número de isolados não sensíveis de BGN (Gráfico 3-A), foram *Molossus* sp. (52,4%; 43/82), seguido de *N. albiventris* (18,3%; 15/82) e *Peropteryx* sp. (8,5%; 7/82) e *Saccopteryx* sp. (6,1%; 5/82). Seguidas de *N. leporinus* (3/82) e 3,6% cada, *P. recifinus* (2/82), *P. discolor* (2/82) e *P. hastatus* (2/82), 2,5% cada, e por último, *C. perspicillata* (1/82), *D. rotundus* (1/82) e *L. aurita* (1/82), com 1,2% cada. E em relação as espécies de morcegos com mais INS de CGP (Gráfico 3-B) foram *Molossus* sp. 60% (18/30), seguida de *C. perspicillata* 10% (3/30). *N. albiventris* 13,3% (2/30), *D. rotundus* (2/30), e *N. leporinus* (2/30), com 6,7% cada, e por último, *Peropteryx* sp. (1/30), *Saccopteryx* sp. (1/30), e *P. hastatus* (1/30), 3,3% cada.

Gráfico 3 – Representação das espécies de morcegos com isolados não sensíveis



Bacilos Gram-negativos (A), cocos Gram-positivos (B). Cores representam a abundância da diversidade de espécies de morcegos com isolados não sensíveis

Em relação à dieta / hábito alimentar, houve diferença estatística para isolados resistentes de hematófagos, 100% (3/3) da espécie de *D. rotundus* ( $P=0,0026$ ). *L. aurita* foi a espécie com mais isolados sensíveis, 75% (3/4), com diferença estatística ( $P=0,0010$ ). Ademais, isolados de guano de colônias de espécies mistas de morcegos, foram os quais mais apresentaram resistência com diferença estatística ( $P=0,0010$ ), onde em 87,5% (21/24) dos isolados testados foi observado resistência. Quanto à comparação entre isolados resistentes e multirresistentes, não houve diferença significativa estatística ( $P=0,1000$ ), nem para BGN ou CGP.

Um total de 83,7% (36/43) dos isolados de guano foram INS, sendo o de aspecto seco em maior número 44,4% (16/36), sendo nove CGP e sete BGN, seguido do guano de camada profunda 27,8% (10/36), sete BGN e três CGP, guano de camada superficial 22,2% (8/36), cinco BGN e três CGP, e por último guano fresco 5,6% (2/36), dois CGP.

#### 6.4.1 Sensibilidade antimicrobiana de bacilos Gram-negativos

Um percentual de 56,7% (76/134) dos bacilos Gram-negativos (BGN) isolados foi resistente a pelo menos um antimicrobiano (Quadros 7 e 8), sendo 81,6% (62/76) isolados de *swabs* (39 oral e 23 retal) dos animais e 18,4% (14/76) de guano. Dentre estes, 21% (16/76) foram multirresistentes (resistência à  $\geq 3$  classes de drogas), sendo maioria do gênero *Enterobacter* (três *E. amnigenus*, três *E. gergoviae*, e um *E. asburiae*), e dois BGNNF (*P. aeruginosa*). As drogas às quais um maior número de isolados apresentou resistência (Figura 12) foram cefalotina (83,3%, 25/30), ampicilina (62,8%, 22/35), cefuroxima (41,8%, 23/55) e amoxicilina-clavulanato 29,5% (13/44). Dentre os isolados classificados como sensíveis com aumento de exposição 18,7% (25/134), 76% (19/25) foram frente à cefuroxima. Ao todo, 24,6% (33/134) dos isolados foram classificados como sensíveis a todos os antimicrobianos testados, enquanto 75,4% (101/134) foram classificados como não-sensíveis.





N: número de isolados. R: Resistente. I: Sensível com aumento de exposição. RI: Resistência intrínseca. AMP: Ampicilina. CFL: Cefalotina. GEN: Gentamicina. AMC: amoxicilina/clavulanato. FEP: cefepime. CRO: ceftriaxona. CRX: cefuroxima. MER: meropenem. CIP: ciprofloxacina. SUT: sulfa/trimetoprim. TET: tetraciclina. CLO: cloranfenicol. AZT: aztreonam. CAZ: ceftazidima. -: não testado.

Quadro 8 – Sensibilidade antimicrobiana de Bacilos Gram-negativos oxidase positiva e não fermentadores, isolados de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE

BGN oxidase positiva	Antimicrobianos																
	N	AZT		CIP		FEP		GEN		MER		SUT		CAZ		P/T	
Complexo <i>Aeromonas veronii</i>	10	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I
	10	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	5	1
BGN Não-fermentador	N	AMI		AZT		FEP		CIP		MER		SUT		LVX		P/T	
	13	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I
<i>Acinetobacter baumannii</i> / <i>haemolyticus</i>	1	0	0	1	0	-	-	-	-	0	0	0	0	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	-	-	-	-	3	0
<i>Pseudomonas alcaligenes/pseudoalcaligenes</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	0	0
<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	7	0	0	3	0	0	0	0	0	0	4	-	-	-	-	0	0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	-	-

N: número de isolados. R: Resistente. I: Sensível com aumento de exposição. AZT: aztreonam. CIP: ciprofloxacina. CAZ: ceftazidima. GEN: Gentamicina. SUT: sulfa/trimetoprim. FEP: cefepime. MER: meropenem. P/T: piperacilina/tazobactam. AMI: amicacina. LVX: levofloxacina. -: não testado.

#### 6.4.2 Sensibilidade antimicrobiana de cocos Gram-positivos

Um total de 67,3% (37/55) dos cocos Gram-positivos isolados de morcegos foram resistentes a pelo menos um antimicrobiano (Quadro 9), sendo 54% (20/37) obtidos da orofaringe (16/20) ou do reto (4/20) dos animais, e 46% (17/37) de guano. Dentre estes, 10,8% (4/37) foram multirresistentes, todos *Staphylococcus* CoNs (não foi possível classificar a nível de espécie). Quanto aos antimicrobianos aos quais os GPC apresentaram maior proporção de resistência, destacam-se a ampicilina (100%; 37/37), penicilina (40,5%, 15/37), clindamicina (27%; 10/37) e eritromicina (27%; 10/37). Ao todo, 14,55% (8/55) dos isolados foram classificados como sensíveis a todos os antimicrobianos, e 85,45% (47/55) como INS, os quais apresentaram sensibilidade com aumento de exposição e/ou resistência a pelo menos um antimicrobiano. Dentre os isolados classificados como sensíveis com

aumento de exposição (n=10), foram frente a somente um antimicrobiano, sendo 7/10 à eritromicina e 3/10 à ciprofloxacina.

Todos os isolados pertencentes ao gênero *Staphylococcus* apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano e 75,7% (28/37), apresentaram sensibilidade com aumento de exposição, a um ou mais antimicrobianos. Por outro lado, 44,44% (8/18) dos isolados de *Enterococcus* foram sensíveis a todas as drogas e 55,55% (10/18) foram sensíveis com aumento de exposição a pelo menos uma droga. Ademais, sete isolados não foram classificados quanto à sensibilidade por não apresentarem crescimento suficiente ou por não haver pontos de corte nos documentos normalizadores, a saber *Leuconostoc* sp. (n=1), *Micrococcus* sp. (n=2), *Pediococcus* sp. (n=1), *Streptococcus dysgalactiae dysgalactiae* (n=2), *Streptococcus mitis / oralis* (n=1), e *Streptococcus* β-hemolítico (n=1).

Quadro 9 – Sensibilidade antimicrobiana de cocos Gram-positivos, isolados de morcegos da Região Metropolitana de Fortaleza, CE

Gênero bacteriano	N	Antimicrobianos																							
		PEN		AMP		AMC		OXA		CRO		CIP		GEN		VAN		ERI		CLI		TET		SUT	
<i>Staphylococcus</i>	37	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I
<i>S. aureus</i>	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>S. cohnii-cohnii</i>	2	1	0	2	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
<i>S. cohnii-urea</i>	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus</i> CoNs	8	3	0	8	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	6	0	5	2	0	0	1	0
<i>S. sciuri</i>	5	3	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0
<i>S. schleiferi</i> <i>schleiferi</i>	2	1	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
<i>Staphylococcus</i> sp.	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>S. xylosus</i>	14	6	0	14	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	5	2	11	1	0	0	0
<i>Enterococcus</i>	N	AMP		AMC		CIP		GNS		VAN		ERI		TET											
	18	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I										
<i>E. faecalis</i>	14	0	0	RI		0	2	0	0	0	0	0	7	0	0										
<i>E. faecium</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0										
<i>E. gallinarum</i>	1	0	0	RI		0	1	0	0	RI		0	0	0	0										

N: número de isolados. R: Resistente. I: Sensível com aumento de exposição. RI: Resistência intrínseca. PEN: penicilina. AMP: ampicilina. AMC: amoxicilina / clavulanato. OXA: oxacilina. CRO: ceftriaxona. CIP: ciprofloxacina. GEN: gentamicina. GNS: gentamicina de alto nível. VAN: vancomicina. ERI: eritromicina. CLI: clindamicina. TET: tetraciclina. SUT: sulfametoxazol/trimetoprim. CoNs: Coagulase negativa.

## 7 DISCUSSÃO

Este presente trabalho traz dados inéditos na região nordeste do Brasil sobre a caracterização da microbiota oral e retal e do guano de morcegos, trazendo dados de isolamento e de identificação bacteriana, bem como da sensibilidade antimicrobiana desses isolados. Nenhum trabalho, até o momento, apresentou esses achados em morcegos, nas localidades mencionadas, bem como a nível regional, juntando-se a outros relatos escassos, do sudeste e sul do país (CLÁUDIO et al., 2018; COSTA et al., 2018; SENS-JUNIOR et al., 2018).

A família Phyllostomidae foi a mais diversa, no presente estudo, com sete espécies / gêneros diferentes, seguida pela Noctilionidae com duas espécies. Os animais das famílias Emballonuridae e Molossidae foram classificados à nível de gênero, sendo dois na primeira e um na segunda. Estes achados corroboram com outros estudos investigando morcegos como reservatórios de microrganismos patogênicos, no Brasil (CORRÊA et al., 2013; NUNES; ROCHA; CORDEIRO-ESTRELA, 2017). Quanto às prevalências, a mais prevalente foi a Phyllostomidae (37,25%; 19/51), seguida de Molossidae (31,37%; 16/51), Emballonuridae (17,65%; 9/51) e Noctilionidae (13,72%; 7/51).

A maior diversidade de espécies / gêneros de morcegos foi coletada no município de Pacatuba, com sete diferentes, abrangendo frugívoros, hematófagos, insetívoros e onívoros. Seguida de Itaitinga e Maranguape. Somente uma espécie se repetiu em mais de um local, *C. perspicillata*, nos municípios de Pacatuba e Itaitinga. No presente estudo, morcegos insetívoros foram 66,6% (34/51) do total, enquanto frugívoros foram 15,7% (8/51), hematófagos 9,8% (5/51), onívoros 3,9% (2/51), 2% piscívoro (1/51), e nectarívoro 2% (1/51).

Os municípios onde foram feitas as coletas ficam em distâncias bem similares à capital do Ceará (Fortaleza). Pacatuba fica a 31km, Itaitinga a 27km, e Maranguape a 28 km (IPECE, 2022) e também se assemelham quanto ao clima e à temperatura. Itaitinga tem a menor população, 38.661 habitantes, Pacatuba conta com 85.647 habitantes, enquanto Maranguape é a quarta maior população da Região Metropolitana de Fortaleza, com 131.677 habitantes, e a maior área (591km<sup>2</sup>), em comparação com 152 km<sup>2</sup> e 132 km<sup>2</sup> de Itaitinga e Pacatuba, respectivamente (IPECE, 2022).

É importante ressaltar que apesar dos locais de coleta terem ocorrido em áreas afastadas do centro dos municípios, Maranguape (22 km), Itaitinga (média de 7,5 km), com exceção de Pacatuba (< 1 km), morcegos de colônias urbanas passam cerca de 72% do tempo alimentando-se em áreas urbanas. Além disso, morcegos de áreas rurais frequentemente alimentam-se em ambientes urbanos, gastando cerca de 45% do seu tempo nesses assentamentos (EGERT-BERG et al., 2021). Morcegos brasileiros costumam forragear numa distância de até 15 km (CLÁUDIO et al., 2018). Nesse contexto, os morcegos não hematófagos da RMF podem voar para complementar sua alimentação, compartilhar alimentos com humanos e outros animais sinantrópicos, como por exemplo, restos de comida, transportando a microbiota entre as áreas.

No presente estudo, os morcegos com maior diversidade microbiana foram insetívoros, seguidos de frugívoros, piscívoro, hematófago, e nectarívoro. O mesmo não aconteceu em estudo prévio no Brasil, com morcegos de mais de um hábito alimentar, Cláudio et al. (2018), onde os frugívoros tiveram maior diversidade, seguidos de insetívoros, nectarívoros, hematófagos e carnívoros. E em outros relatos de morcegos do novo mundo, no México, dois trabalhos observaram hematófagos em primeiro, seguidos de insetívoros ou frugívoros, e nectarívoros (GALICIA JIMÉNEZ; BUENROSTRO; GARCÍA, 2014; CARRILLO-ARAÚJO et al., 2015). Por outro lado, o presente estudo apresentou resultados similares ao de morcegos do velho mundo, na China, que observou insetívoros como mais diversos, seguidos de frugívoros e nectarívoro (LI et al, 2018). Os morcegos hematófagos são os únicos com alimentação restrita (DURON; GOTTLIEB, 2020), já morcegos não hematófagos, como, insetívoros e frugívoros, podem ter variação de alimentação (BANSKAR; MOURYA; SOUCHE, 2016a), e dessa maneira podem adquirir uma maior diversidade microbiana.

A microbiota bacteriana do trato gastrintestinal (TGI) de morcegos apresenta uma predominância de bacilos Gram-negativos, pertencentes ao filo Proteobacteria, como isolados mais identificados, em relação aos cocos e bacilos Gram-positivos, com destaque para aqueles pertencentes ao filo Firmicutes (CLÁUDIO et al., 2018; DIMKIĆ et al., 2021; FEDERICI et al., 2022). O mesmo foi observado no presente trabalho com 60,8% (135/222) do total de isolados formados por BGN, 99,3% (134/135) pertencentes ao filo Proteobacteria, e 39,1% (87/222) por

bactérias Gram-positivas, divididas em CGP (n=63) e BGP (n=24), 95,4% (83/87) pertencentes ao filo Firmicutes.

A maior diversidade encontrada na cavidade oral pode ter relação com o hábito alimentar insetívoro, maioria dos animais coletados no presente estudo, os quais frequentemente tinham restos de suas presas. Insetos, a exemplo de artrópodes, que já foram implicados como carreadores de bactérias potencialmente zoonóticas, incluindo isolados da família Enterobacteriaceae (WALES et al., 2010). Além disso é uma cavidade propensa a ter maior número de isolados da microbiota residente na mucosa oral, além disso, diferenças em pH da saliva de acordo com o hábito alimentar, em insetívoros (básico) e em frugívoros (ácido), podem influenciar nesta diversidade (FEDERICI et al., 2022). As porcentagens de colonização retal e de guano foram similares, essa menor diversidade microbiana pode ter relação com a microbiota transitória nesses sítios, influenciada por fatores como, rápido trânsito intestinal (FEDERICI et al., 2022), e degradação do guano no ambiente, como já relatado por estudo de Dietrich; Markotter (2019).

No tocante à origem da amostra, maior parte dos BGN foram da orofaringe, seguido de reto, sendo que foram 17 gêneros bacterianos diferentes na cavidade oral e 13 no reto. Foi obtida uma maior diversidade no presente trabalho, em comparação com a pesquisa de Sens-Junior et al. (2018), que trabalharam com amostras de 68 animais. Por outro lado, em comparação com a pesquisa de Cláudio et al. (2018), uma menor diversidade bacteriana foi observada no presente estudo, mas esses pesquisadores trabalharam com amostras de 113 morcegos, bem acima do número de animais avaliados no presente estudo.

Quanto à identificação de bacilos Gram-negativos, quase todos, com exceção de um *Empedobacter brevis* (filo Bacteroidetes), foram pertencentes ao filo Proteobacteria, e maior parte destes isolados teve origem em *swabs* de orofaringe e retais (80,7%; 109/135), dos quais (67%; 90/109) foram da ordem Enterobacterales, corroborando com os trabalhos de Cláudio et al. (2018) e Sens-Junior et al. (2018), que observaram uma predominância de BGN do filo Proteobacteria, com ênfase na ordem Enterobacterales, em amostras da cavidade oral e do reto de morcegos.

No presente trabalho, o gênero mais isolado de BGN foi *Enterobacter*, seguido por *Klebsiella* e *Escherichia*. Para Sens-Junior et al. (2018) que teve uma menor diversidade de gêneros e espécies, *Escherichia* foi o mais presente, seguido de *Pantoea*, e *Klebsiella*, enquanto que para Cláudio et al. (2018) os gêneros de

BGN mais presentes foram *Enterobacter*, *Serratia* e *Klebsiella*. Isolados de *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia* estão entre os mais prevalentes em infecções humanas e animais, por isso sua importância na perspectiva da Saúde Única (MCDUGALL et al., 2021a). Além do relatos no Brasil, *Enterobacter* e *Escherichia* também já foram observados em abundância em amostras de morcegos do novo mundo (GALICIA JIMÉNEZ; BUENROSTRO; GARCÍA, 2014; CARILLO-ARAUJO et al., 2015; NÚÑEZ-MONTERO et al., 2021). *Klebsiella*, observado no novo mundo, somente em relatos do Brasil, foi por outro lado, observado como um dos principais gêneros componentes da microbiota do TGI de morcegos frugívoros / nectarívoros (FEDERICI et al., 2022) do velho mundo (DANIEL et al., 2013; BANSKAR et al., 2016b; GUAROUT-SAIT et al., 2019; MCDUGALL et al., 2021b; HUANG et al., 2022), que também observaram os gêneros (*Enterobacter* e *Escherichia*).

Em relação aos BGNNF, no presente estudo a soma das espécies de *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Stenoprophomonas*, correspondeu a menos de 10%, em comparação isolados do complexo *Aeromonas veronii* foram sozinhos mais numerosos. Para Cláudio et al. (2018), a soma dos mesmos isolados BGNNF foi superior, já em relação aos isolados de *Aeromonas*, foi inferior ao presente trabalho. Isolados do gênero *Pseudomonas*, em específico a *P. aeruginosa*, espécie mais estudada do gênero por sua relevância clínica, não teve destaque no presente estudo, semelhante ao ocorrido no estudo de Selvin et al. (2019). Ao contrário, isolados do complexo *P. fluorescens/putida* foram mais numerosos no presente estudo, estes são considerados patógenos oportunistas (SILVERIO et al., 2022).

Os outros bacilos Gram-negativos identificados no presente trabalho (19,3%; 26/135) tiveram origem em guano, e todos foram do filo Proteobacteria, isolados BGN deste tipo de amostra ainda não haviam sido reportados no Brasil, mas já foram em países da Europa (Sérvia, Eslovênia, Holanda, Eslováquia, Bulgária, França e Finlândia), África do sul, e Ásia (Índia, China e Filipinas), onde os isolados BGN também ficaram distribuídos principalmente entre filo Proteobacteria, só que originados de morcegos do velho mundo (DIMKIĆ et al., 2021).

Quanto à identificação de cocos Gram-positivos, o presente trabalho isolou majoritariamente espécies do filo Firmicutes 97% (59/63), sendo a maioria *Staphylococcus* (n=37). No trabalho de Cláudio et al. (2018), *Staphylococcus* também foi o gênero mais presente dos CGP. Além disso, no presente estudo *Staphylococcus* CoNs representaram 54% (34/63) dos CGP, especialmente *S.*

*xylosus* e *S. sicuri*. Sendo 38,2% (13/34) de origem oral, 11,8% (4/34) retal, e 50% (17/34) de guano. *S. xylosus* e *S. sicuri* são patógenos relacionados à animais (como carreadores) e também já foram relacionados com alimentos de origem animal (carne), considerados patógenos oportunistas em infecções humanas (NEMEGHAIRE et al., 2014; LEROY et al., 2017). E *S. sciuri* também já foi relatado em guano de morcegos do novo mundo (NÚNEZ-MONTERO et al., 2021).

Considerando isolados BGN e CGP, originados de guano, no presente trabalho, BGN do filo Proteobacteria foram mais prevalentes, seguidos de CGP do filo Firmicutes, o mesmo ocorreu no Chile, onde amostras de morcego insetívoro foram avaliadas (NÚNEZ-MONTERO et al., 2021), e em trabalho mais recente na China (HUANG et al., 2022). No entanto, divergiu de trabalho nos EUA (NEWMAN et al., 2018), e na África do sul (DIETRICH et al., 2016), os quais observaram maior prevalência do filo Firmicutes.

A resistência antimicrobiana (AMR) está consolidada como um dos principais problemas de saúde atual e futuro, e uma das mais relevantes áreas para aplicação da perspectiva Saúde única ao redor do mundo, envolvendo as dinâmicas de interações entre humanos, animais domésticos / selvagens, e o meio ambiente (FEDERICI et al., 2022). No presente trabalho o percentual de resistência global, a pelo menos um antimicrobiano, foi de 59,8% (113/189). Mesmo dada a relevância dos morcegos, animais que podem fazer parte de todas as dinâmicas supracitadas, através de contato direto ou indireto (Exemplo: guano) para transmissão de patógenos (JOFFRIN et al., 2018), nenhum trabalho prévio, no nordeste do Brasil, reportou AMR em isolados de morcegos. Contabilizando os isolados não sensíveis (INS), do presente estudo, o percentual encontrado é ainda mais alto (75,4%; 101/134), ou seja mais 75% já tiveram exposição à algum tipo de resistência.

Em relação aos animais, 80,4% (41/51) apresentaram pelo menos um isolado resistente. Morcegos hematófagos (*D. rotundus*) foram o único hábito alimentar, no presente trabalho, a obter diferença estatística ( $P=0,0026$ ) em seus isolados, os quais, todos (100%; 6/6) apresentaram resistência, a saber: cinco *Staphylococcus* CoNs e uma *E. coli*. Benavides et al. (2022), observaram *E. coli* produtoras de *ESBL* e multirresistentes, incluindo cefalosporinas de 4ª geração e fluorquinolonas, com origem de *swabs* retais da mesma espécie em questão, *D. rotundus*, todavia em baixa porcentagem (5%; 20/388).

No que concerne o sítio de coleta, no presente estudo, 48,7% (55/113) dos isolados resistentes foram de sítio oral, e 23,9% (27/113) de sítio retal, proporcionalmente Sens-Júnior (2018) teve distribuição mais próxima, 56% oral e 43,5% retal, do que a encontrada por Cláudio et al. (2018), que obteve 60% oral e 40% retal. Das amostras de guano 100% (15/15) apresentaram pelo menos um isolado resistente, e no percentual global, seus isolados representaram 27,4% (31/113) do total. O guano obtido de colônia mista (insetívoro / piscívoro e / ou insetívoro / nectarívoro) foi o único que obteve diferença estatística em seus isolados ( $P=0,0026$ ), onde 87,5% (21/24) dos isolados foram resistentes.

A porcentagem de AMR para bacilos Gram-negativos foi alta 56,7% (76/134), comparada com os trabalhos realizados anteriormente no Brasil, Sens-Júnior et al. (2018), por exemplo, observaram percentual similar 52,9% (46/87) de resistência em bactérias da ordem Enterobacterales de morcegos capturados em área de fragmentação florestal, próxima de habitações humanas. Por outro lado, Cláudio et al. (2018) obteve um percentual de resistência em BGN potencialmente patogênicos (12,3%; 10/81) inferior ao observado no presente trabalho. As altas porcentagens de resistência encontradas no presente trabalho, podem ser explicadas pelos fatores (ambiental x antrópico), já que juntamente com Sens-Junior et al. (2018), os quais obtiveram porcentagens semelhantes, ambos foram realizados em áreas peri-urbanas/urbanas, com maior atividade e influência antrópica, que o de Cláudio et al. (2018), o qual foi realizado em área protegida de conservação do bioma Mata Atlântica, com isso sofrendo menos da ação antrópica, com interação reduzida entre humanos e animais.

Estudos focados em *E. coli*, especialmente produtoras de ESBLs, são importantes pois podem atuar como indicadores de pressão seletiva de isolados ambientais do TGI de animais selvagens (RADHOUANI et al., 2014; NOWAKIEWICZ et al., 2020a). O percentual AMR dos isolados de *E. coli* no atual trabalho, foi de 66,7% (6/9), maior parte originada de guano, comparando com outros trabalhos que testaram somente isolados de *E. coli*, foi inferior ao de Adesiyun; Stewart-Johnson; Thompson (2009) em morcegos do novo mundo, que obteve 82% (40/49). Por outro lado, o percentual foi superior em isolados de *E. coli* de morcegos do velho mundo, Nowakiewicz et al. (2020a) e McDougall; Boardman; Power. (2021a), que obtiveram 48,7% (38/78) e 4% (13/318), respectivamente. Destes, somente o primeiro utilizou conjuntamente mais de um tipo de amostra (swab retal e guano em *pool*).

O relato de AMR para *Aeromonas* sp. de morcegos é inédito no Brasil. Espécies do gênero já foram isoladas, mas não haviam sido testadas quanto à sensibilidade antimicrobiana (CLÁUDIO et al., 2018). Este gênero de bactéria é onipresente em ambientes aquáticos, e relatado na literatura como patógeno de peixes. A resistência antimicrobiana já foi relatada em isolados de peixes ornamentais, inclusive no Brasil (HOSSAIN; HEO, 2020). Em estudo recente bactérias do gênero *Aeromonas* foram classificadas como patógenos oportunistas para humanos, estando associado principalmente a doenças gastrintestinais (GONÇALVES PESSOA et al., 2019).

Já a porcentagem AMR para cocos Gram-positivos (67,3%; 37/55) foi ainda maior que a de BGN, e dos INS (85,45%; 47/55) também. Esses percentuais não eram esperados dada a quantidade expressivamente maior de relatos da resistência em isolados BGN provenientes de morcegos no Brasil e no mundo. No presente estudo todos os *Staphylococcus* sp. apresentaram resistência ( $P < 0,0001$ ), à pelo menos um antimicrobiano (ampicilina). Destes 94,6% (35/37) foram *Staphylococcus* CoNs, estes, no geral, tem capacidade de adquirir resistência antimicrobiana, detectados em ambientes não hospitalares, como na pecuária, estas bactérias podem ter um suposto papel como reservatórios de genes de resistência, no entanto as infecções causadas por estas são menos comuns na medicina veterinária (HEILMANN; ZIEBUHR; BECKER, 2018). Três outros trabalhos, realizados com morcegos do velho mundo, foram pioneiros no reporte de resistência em CGP. Na Eslováquia (VANDŽUROVÁ et al., 2013) em *Staphylococcus nepalensis* isolados de guano, os quais apresentaram resistência à ampicilina, tetraciclina, gentamicina e cloranfenicol. *Staphylococcus* sp. na Espanha (GÁRCIA et al., 2020), resistentes à eritromicina e à estreptomicina, e em Bangladesh (UDDIN et al., 2020) à ampicilina, estreptomicina, entre outros. Fora esses, um relato de MRSA observou genes de resistência à antimicrobianos, como amoxicilina, originado de morcegos frugívoros no Reino Unido (FOUNTAIN et al., 2022).

Quanto aos isolados de *Enterococcus* spp., no presente estudo, 55,5% (10/18) foram INS, sendo 3/10 à ciprofloxacina, e 7/10 à eritromicina, de swabs oral ou retal, não houve isolado resistente, e nem INS originado de guano. Este resultado foi semelhante ao de Costa et al. (2018), no percentual de AMR em *Enterococcus* spp. com 43% (32/73) frente à eritromicina, porém em isolados de guano, e diferiu dos percentuais de 8,2% (6/73) à ciprofloxacina, e 1,4% (1/73) à tetraciclina. Outros

estudos com guano, de morcegos do velho mundo, observaram na Espanha (NOWAKIEWICZ et al., 2020b) resistência em *E. faecalis* à tetraciclina, estreptomicina e eritromicina, principalmente, e no Marrocos, em isolados de *Enterococcus* spp. observaram 100% de resistência à oxacilina, e clindamicina (SAKOUÏ et al., 2022), o qual não corrobora ao observado no atual estudo.

Os antimicrobianos pertencentes às classes das penicilinas, cefalosporinas de 1ª e 2ª gerações, e agentes combinados: penicilina + inibidor de  $\beta$ -lactamase, foram aos quais, os isolados BGN apresentaram mais resistência, o mesmo aconteceu nos trabalhos que avaliaram resistência em morcegos no Brasil (CLÁUDIO et al., 2018; SENS-JUNIOR et al., 2018), onde as mesmas classes de drogas foram as mais presentes. Para os CGP, as classes de penicilinas, lincosamida e macrolídeo, destacaram-se, a primeira em concordância com Uddin et al. (2020), a segunda com Sakoui et al. (2022), e a última, em concordância com Costa et al., (2018), García et al. (2020), e Nowakiewicz et al. (2020b). Destas drogas, houve diferença estatística ( $P < 0,0001$ ) para ampicilina e cefalotina (aminopenicilina e cefalosporina de 1ª geração). Estes antimicrobianos são  $\beta$ -lactâmicos, e tem mecanismo de ação semelhante (bactericida), impedindo a síntese da parede celular bacteriana (RADHOUANI et al., 2014).

As classes de drogas, as quais, os isolados de BGN e CGP apresentaram mais resistência, no presente estudo, são classificadas com importância crítica ou alta, respectivamente, para a saúde humana e animal, segundo a OMS e a Organização Mundial da saúde animal (OIE) (MCEWEN; COLLIGNON, 2018). Por outro lado, foi observado um total de doze classes drogas a que os isolados foram mais sensíveis, com diferença estatística ( $P < 0,0001$ ), a saber: fluorquinolona, aminoglicosídeos, agentes combinados  $\beta$ -lactâmicos, carbapenêmico, cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações, penicilina resistente a penicilinase, antagonistas do ácido fólico, tetraciclina, afenicol e glicopeptídeo.

Os resultados deste presente trabalho, apresentam achados de resistência ambiental, e podem ser relacionados às duas formas principais de resistência (adquirida e horizontal), visto que, na primeira, bactérias naturalmente sensíveis podem desenvolver resistência com exposição direta aos antimicrobianos, gerando mutações em genes celulares (cromossomos), e na horizontal a transferência ocorre por elementos móveis (como plasmídeos), onde a exposição

direta não é necessária. Em ambas genes de resistência são compartilhados entre as cepas bacterianas (GIEDRAITIENÉ et al., 2011; RADHOUANI et al., 2014).

A abordagem da Saúde única é essencial para a compreensão dos achados do presente trabalho, tendo em vista que a maior parte das classes de antimicrobianos existentes é utilizada em humanos e animais (MCEWEN; COLLIGNON, 2018). Iniciativas como o Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos antimicrobianos no âmbito da Agropecuária (PAN-BR AGRO), 2018-2022, são importantes políticas públicas contra a resistência antimicrobiana no setor agropecuário (MAPA, 2018). Na medida que, por exemplo, antimicrobianos como tetraciclinas e estreptomicinas, são usados em sistemas de produção agrícola e agropecuária como profilaxia contra infecções bacterianas (MCEWEN; COLLIGNON, 2018).

Considerando que esses animais silvestres nunca foram tratados com antimicrobianos, questiona-se a origem da elevada resistência a antimicrobianos observada no presente estudo. A presença crescente de morcegos em áreas peri-urbanas e urbanas, como zonas metropolitanas de grandes cidades, as quais estão mais suscetíveis aos impactos associados às ações antrópicas, como, poluição, desmatamento, falta de saneamento, causando pressão seletiva em bactérias patogênicas e comensais, através de estressores, como o uso indiscriminado de antibióticos de largo espectro, metais pesados e biocidas, presentes nos ambientes e proximidades (água, alimento, esgoto, dejetos animais), ondem os morcegos abrigavam-se (RADHOUANI et al., 2014; BENGTTSSON-PALME; KRISTIANSSON; LARSSON, 2018; AGUIAR; PEREIRA, 2019). Nesse contexto, os morcegos podem estar atuando na manutenção e disseminação de bactérias resistentes, que foram predominantes neste estudo.

## 8 CONCLUSÃO

O presente estudo apresenta dados inéditos sobre a caracterização da diversidade bacteriana, da microbiota oral, retal e de guano de quirópteros da Região Metropolitana de Fortaleza, estado do Ceará, onde foi possível isolar e identificar bactérias de todos os sítios. Essa microbiota é composta predominantemente por bacilos Gram-negativos, do Filo Proteobacteria, em específico, da ordem Enterobacterales. Seguida por cocos Gram-positivos do Filo Firmicutes. Altos percentuais de resistência a antimicrobianos foram observados, os quais foram mais elevados para Cocos Gram-positivos, do que para Bacilos Gram-negativos, o que não era esperado, uma vez que na literatura há um destaque à resistência antimicrobiana em bacilos Gram-negativos.

Podemos supor que os altos percentuais de resistência antimicrobiana encontrados podem ter grande influência das ações antrópicas no ambiente, causando pressão seletiva nas bactérias, como, uso indiscriminado de antimicrobianos, poluentes, e saneamento precário, que afetam a eco-epidemiologia dos morcegos, tornando-os reservatórios de bactérias resistentes.

Mais pesquisas sob a perspectiva da Saúde Única são necessárias para melhor compreender a dinâmica de aquisição de resistência por bactérias colonizantes de morcegos, bem como, promover a vigilância de sensibilidade antimicrobiana, a fim de contribuir na prevenção da possível disseminação destas bactérias resistentes.

## REFERÊNCIAS

- ADESIYUN, A. A.; STEWART-JOHNSON, A.; THOMPSON, N. N. Isolation of enteric pathogens from bats in Trinidad. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 4, p. 952–961, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.4.952>. Acesso em: 08 dez. 2022.
- AGUIAR, L. M. S.; PEREIRA, M. J. R. Are we underestimating the threat status of Brazilian bats? **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, v. 85, p. 144–151, 2018. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/338171454\\_Are\\_we\\_underestimating\\_the\\_threat\\_status\\_of\\_Brazilian\\_bats](https://www.researchgate.net/publication/338171454_Are_we_underestimating_the_threat_status_of_Brazilian_bats). Acesso em: 23 nov. 2022.
- AGUIAR, L.M.S.; ZORTÉA, M. 2018. **Comitê de Conservação de Morcegos do Brasil**. SBEQ 2018.v. 1, 2018. Disponível em: <http://www.sbeq.net/conservar>. Acesso em: 23 nov. 2022.
- ALLOCATI, N.; PETRUCCI, A. G.; GIOVANNI, P. DI.; ILIO, C. DI.; LAURENZI, V. D. Bat–man disease transmission: zoonotic pathogens from wildlife reservoirs to human populations. **Cell Death Discovery**, v. 2, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2016.48>. Acesso em: 23 nov. 2022.
- ANDRÉ, M. R.; GUTIÉRREZ, R.; IKEDA, P.; AMARAL, R. B.; SOUSA, K. C. M.; NACHUM-BIALA, Y.; LIMA L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MACHADO, R. Z.; HARRUS, S. Genetic diversity of Bartonella spp. in vampire bats from Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, 66(6), p. 2329–2341, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tbed.13290>. Acesso em: 23 nov. 2022.
- BANSKAR, S.; MOURYA, D. T.; SHOUCHE, Y. S. Bacterial diversity indicates dietary overlap among bats of diferentes feeding habits. **Microbiological Research**, v. 182, p. 99-108, 2016a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.10.006>. Acesso em: 23 nov. 2022.
- BANSKAR, S.; BHUTE, S. S.; SURYAVANSHI, M. V.; PUNEKAR, S.; SHOUCHE, Y. S. Microbiome analysis reveals the abundance of bacterial pathogens in *Rousettus leschenaultii* guano. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, 2016b. Disponível em: DOI: 10.1038/srep36948. Acesso em: 23 nov. 2022.
- BEENA, V.; SAIKUMAR, G. Emerging horizon for bat borne viral zoonoses. **Virus Disease**, v. 30(3), p. 321–328, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13337-019-00548-z>. Acesso em: 23 nov. 2022.
- BENAVIDES, J. A. GODREUIL, S.; OPAZO-CAPURRO, A.; MAHAMAT, O. O.; FALCON, N.; ORAVCOVA, K.; STREICKER, D. G.; SHIVA, C. Long-term maintenance of multidrug-resistant *Escherichia coli* carried by vampire bats and shared with livestock in Peru. **Science of The Total Environment**, v. 810, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152045>. Acesso em: 23 nov. 2022.

BENAVIDES, J. A. SHIVA, C.; VIRHUEZ, M.; TELLO, C.; APPELGREN, A.; VENDRELL, J.; SOLASSOL, J.; GODREUIL, S.; STREICKER, D. G. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in common vampire bats *Desmodus rotundus* and livestock in Peru. **Zoonoses and Public Health**, v. 65, n. 4, p. 454–458, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/zph.12456>. Acesso em: 23 nov. 2022.

BENGTSSON-PALME, J.; KRISTIANSSON, E.; LARSSON, D. G. J. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 42, n. 1, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>. Acesso em: 23 nov. 2022.

BERG, G.; RYBAKOVA, D.; FISCHER, D.; CERNAVA, T.; VERGÈS, M.-C. C.; CHARLES, T.; CHEN, X.; COCOLIN, L.; EVERSOLE, K.; CORRAL, G. H.; KAZOU, M.; KINKEL, L.; LANGE, L.; LIMA, N.; LOY, A.; MACKLIN, J. A.; MAGUIN, E.; MAUCLINE, T.; MCCLURE, R.; MITTER, B.; RYAN, M.; SARAND, I.; SMIDT, H.; SCHELKLE, B.; ROUME, H.; KIRAN, G. S.; SELVIN, J.; SOUZA, R. S. C. de; VAN OVERBEEK, L.; SINGH, B. K.; WAGNER, M.; WALSH, A.; SESSITSCH, A.; SCHLOTTER, M. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. **Microbiome**, v. 8, n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>. Acesso em: 23 nov. 2022.

BONELLI, R. R.; MOREIRA, B. M.; PICÃO, R. C. Antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae in South America: History, current dissemination status and associated socioeconomic factors. **Drug Resistance Updates**, v. 17(1–2), p. 24–36, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.drup.2014.02.001>. Acesso em: 23 nov. 2022.

BRCAS. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. **Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos**, 2022. Disponível em: <http://www.brcast.org.br>. Acesso em: 23 de nov. 2022.

BROOK, C. E.; DOBSON, A. P. Bats as ‘special’ reservoirs for emerging zoonotic pathogens. **Trends in Microbiology**, v. 23(3), p. 172–180, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.12.004>. Acesso em: 23 nov. 2022.

CABAL, A.; PEREIRA, M. J.; AGUIAR, L. M. S.; DOMÍNGUEZ, L.; FONSECA, C.; ÁLVAREZ, J.; DREXLER, J. F.; GORTÁZAR, C. Direct Detection of *Escherichia coli* Virulence Genes by Real-Time PCR in Fecal Samples from Bats in Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 51(4), p. 942–945, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.7589/2015-01-024>. Acesso em: 23 nov. 2022.

CARRILLO-ARAUJO, M.; TAŞ, N.; ALCÁNTARA-HERNÁNDEZ, R. J.; GAONA, O.; SCHONDUBE, J. E.; MEDELLÍN, R. A.; JANSSON, J. K.; FALCÓN, L. I. Phyllostomid bat microbiome composition is associated to host phylogeny and feeding strategies. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00447>. Acesso em: 23 dez. 2022.

CHEN, Y.; LIU, Q.; GUO, D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. **Journal of Medical Virology**, 92(4), p. 418–423, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>. Acesso em: 23 nov. 2022.

CIBULSKI, S.; LIMA, F. E. S.; ROEHE, P. M. Coronaviruses in Brazilian bats: A matter of concern? **PLoS Neglected Tropical Diseases** v. 14(10), 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008820>. Acesso em: 23 nov. 2022.

CLÁUDIO, V. C.; GONZALEZ, I.; BARBOSA, G.; ROCHA, V.; MORATELLI, R.; RASSY, F. Bacteria richness and antibiotic-resistance in bats from a protected area in the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. **PLOS ONE**, v. 13(9), 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203411>. Acesso em: 23 nov. 2022.

CLSI. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31st ed. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2021.

CORRÊA, M. M. de O.; LAZAR, A.; DIAS, D.; BONVICINO, C. R. Quirópteros Hospedeiros de Zoonoses no Brasil. **Boletim Informativo Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, v. 67, p. 23–38, 2013. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/11604>. Acesso em: 23 nov. 2022.

COSTA, L. da F. X.; GRASSOTTI, T. T.; CANANI, C. R.; DE LIRA, A. D.; DE MOURA, T. M.; CAMPOS, A. A. S.; FRAZZON, J.; FRAZON, A. P. G. Diversidade, perfis de resistência e virulência de *Enterococcus* spp. em fezes de morcegos urbanos *Tadarida brasiliensis* (Brazilian free-tailed bats). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 17, n. 2, p. 43–52, 2019. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/rbrasbioci/article/view/114574>. Acesso em: 23 dez. 2022.

CROWLEY, D.; BECKER, D.; WASHBURNE, A.; PLOWRIGHT, R. Identifying suspect bat reservoirs of emerging infections. **Vaccines**, 8(2), 228, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/vaccines8020228>. Acesso em: 23 nov. 2023.

DANIEL, D. S.; NG, Y. K.; CHUA, E. L.; ARUMUGAM, Y.; WONG, W. L.; KUMARAN, J. V. Isolation and identification of gastrointestinal microbiota from the short-nosed fruit bat *Cynopterus brachyotis brachyotis*. **Microbiological Research**, v. 168, n. 8, p. 485–496, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.04.001>. Acesso em: 23 nov. 2023.

DECARO, N.; MARTELLA, V.; SAIF, L. J.; BUONAVOGLIA, C. COVID-19 from veterinary medicine and one health perspectives: What animal coronaviruses have taught us. **Research in Veterinary Science**, v. 131, p. 21–23, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.009>. Acesso em: 23 nov. 2022.

DE OLIVEIRA, R.; GUTERRES, A.; FERNANDES, J.; D'ANDREA, P.; BONVICINO, C.; DE LEMOS, E. Hantavirus reservoirs: Current status with an emphasis on data from Brazil. **Viruses**, v. 6(5), p. 1929–1973, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v6051929>. Acesso em: 23 nov. 2022.

DE REZENDE, M. B.; HERRERA, H. M.; CARVALHO, C. M. E.; CARVALHO ANJOS, E. A.; RAMOS, C. A. N.; DE ARAÚJO, F. R.; TORRES, J. M.; DE

OLIVEIRA, C. E. Detection of *Leishmania* spp. in Bats from an Area of Brazil Endemic for Visceral Leishmaniasis. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 64(6), 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tbed.12597>. Acesso em: 23 nov. 2022.

DIETRICH, M.; KEARNEY, T.; SEAMARK, E. C. J.; MARKOTTER, W. The excreted microbiota of bats: evidence of niche specialisation based on multiple body habitats. **FEMS Microbiology Letters**, v. 364, n. 1, p. fnw284, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw284>. Acesso em: 24 jan. 2023.

DIETRICH, M.; MARKOTTER, W. Studying the microbiota of bats: Accuracy of direct and indirect samplings. **Ecology and Evolution**, v. 9, n. 4, p. 1730–1735, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ece3.4842>. Acesso em: 23 nov. 2022

DIMKIĆ, I.; FIRA, D.; JANAKIEV, T.; KABIC, J.; STUPAR, M.; NENADIC, M.; UNKOVIC, N.; GRBIC, M. L. The microbiome of bat guano: For what is this knowledge important? **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11143-y>. Acesso em: 23 nov. 2022.

dos REIS, N. L.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; DE LIMA, I. P. Morcegos do Brasil. **Universidade Estadual de Londrina**, p. 253, 2007.

DURON, O.; GOTTLIEB, Y. Convergence of Nutritional Symbioses in Obligate Blood Feeders. **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 10, p. 816–825, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.07.007>. Acesso em: 23 nov. 2022.

EGERT-BERG, K.; HANDEL, M.; GOLDSHTEIN, A.; EITAN, O.; BORISSOV, I.; YOVEL, Y. Fruit bats adjust their foraging strategies to urban environments to diversify their diet. **BMC Biology**, v. 19, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12915-021-01060-x>. Acesso em: 23 nov. 2022.

FEDERICI, L.; MASULLI, M.; LAURENZI, V.; ALLOCATI, N. An overview of bats microbiota and its implication in transmissible diseases. **Frontiers in Microbiology**, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1012189>. Acesso em: 23 nov. 2022.

FERREIRA, M. S.; GUTERRES, A.; ROZENTAL, T.; NOVAES, R. L. M.; VILAR, E. M.; OLIVEIRA, R. C. de; FERNANDES, J.; FORNEAS, D.; JUNIOR, A. A.; BRANDÃO, M. L.; CORDEIRO, J. L. P.; DEL VALLE ALVAREZ, M. R.; ALTHOFF, S. L.; MORATELLI, R.; CORDEIRO-ESTRELA, P.; SILVA, R. C. da; LEMOS, E. R. S. de. *Coxiella* and *Bartonella* spp. in bats (Chiroptera) captured in the Brazilian Atlantic Forest biome. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1603-0>. Acesso em: 23 nov. 2022.

FOUNTAIN, K.; BARBON, A.; GIBBON, M. J.; LLOYD, D. H.; LOEFFLER, A.; FEIL, E. J. *Staphylococcus aureus* lineages associated with a free-ranging population of the fruit bat *Pteropus livingstonii* retained over 25 years in captivity. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 5 ago. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.07.018>. Acesso em: 23 jan. 2023.

FRANCO BESSA, T. Á.; BERARDIS CHAPOLA, É. G.; SPICHLER, A.; VINETZ, J. M.; VEIGA SACRAMENTO, D. R.; MOURIZ SAVANI, E. S. M.; SODRÉ, M. M.; FERNANDES ALMEIDA, M.; HUSCH, A. C. The contribution of bats to leptospirosis transmission in São Paulo City, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82(2), p. 315–317, 2010. Disponível em:

<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0227>. Acesso em: 23 nov. 2022.

GALICIA JIMÉNEZ, M. M.; BUENROSTRO S., A.; GARCÍA G., J. Diversidad específica bacteriana en murciélagos de distintos gremios alimenticios en la sierra sur de Oaxaca, México. **Revista de Biología Tropical**, v. 62, p. 1673, 2014.

Disponível em: <https://doi.org/10.15517/rbt.v62i4.13076>. Acesso em: 08 dez. 2022.

GARBINO, G. S. T.; GREGORIN, R.; LIMA, I. P.; LOUREIRO, L.; MORAS, L. M.; MORATELLI, R.; NOGUEIRA, M. R.; PAVAN, A. C.; TAVARES, V. C.; DO NASCIMENTO, M. C.; PERACCHI, A. L. Comitê da Lista de Morcegos do Brasil—CLMB. **Sociedade Brasileira para o Estudo de Quirópteros (Sbeq)**. Disponível em:

<https://www.sbeq.net/lista-de-especies>. Acesso em: 23 nov. 2022.

GARCÍA-SOLACHE, M.; RICE, L. B. The *Enterococcus*: a Model of Adaptability to Its Environment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.1128/cmr.00058-18>. Acesso em: 23 nov. 2022.

GARCÍA, L. A.; TORRES, C.; LÓPEZ, A. R.; RODRÍGUEZ, C. O.; ESPINOSA, J. O.; VALENCIA, C. S. *Staphylococcus* spp. from wild mammals in Aragón (Spain): antibiotic resistance status. **Journal of Veterinary Research**, v.64, p.373-379, 2020.

Disponível em: <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0057>. Acesso em: 23 nov. 2022.

GHAROUT-SAIT, A.; TOUATI, A.; AHMIM, M.; BRASME, L.; GUILLARD, T.; AGSOUS, A.; DE CHAMPS, C. Occurrence of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Bat Guano. **Microbial Drug Resistance**, v. 25, n. 7, p. 1057–1062, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0471>. Acesso em: 2 fev. 2023.

GIEDRAITIENÉ, A.; VITKAUSKIENÉ, A.; NAGINIENÉ, R.; PAVILOVIS, A. Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. **Medicina**, 47(3), 19, 2011.

Disponível em: <https://doi.org/10.3390/medicina47030019>. Acesso em: 08 dez. 2022.

GONÇALVES PESSOA, R. B.; DE OLIVEIRA, W. F.; MARQUES, D. S.C.; DOS SANTOS CORREIA, M. T.; DE CARVALHO, E. V. M. M.; COELHO, L. C. B. B. The genus *Aeromonas*: A general approach. **Microbial Pathogenesis**, v. 130, p. 81, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.036>. Acesso em: 23 nov. 2022.

GORBUNOVA, V.; SELUANOV, A.; KENNEDY, B. K. The world goes bats: Living longer and tolerating viruses. **Cell Metabolism**, 32(1), 31–43, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.013>. Acesso em: 23 nov. 2022.

HAYMAN, D. T. S.; BOWEN, R. A.; CRYAN, P. M.; MCCRACKEN, G. F.; O'SHEA, T. J.; PEEL, A. J.; GILBERT, A.; WEBB, C. T.; WOOD, J. L. N. (2013). Ecology of zoonotic infectious diseases in bats: Current knowledge and future directions.

**Zoonoses and Public Health**, v. 60(1), p. 2–21, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/zph.12000>. Acesso em: 23 nov. 2022.

HEILMANN, C.; ZIEBUHR, W.; BECKER, K. Are coagulase-negative staphylococci virulent? **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, p. 1071–1080, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.11.012>. Acesso em: 23 nov. 2022.

HUANG, Y.; SUN, Y.; HUANG, Q.; LV, Z.; PU, J.; ZHU, W.; LU, S.; JIN, D.; LIU, L.; SHI, Z.; YANG, J.; XU, J. The Threat of Potentially Pathogenic Bacteria in the Feces of Bats. **Microbiology Spectrum**, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/spectrum.01802-22>. Acesso em: 23 nov. 2022.

HOSSAIN, S.; HEO, G.-J. Ornamental fish: a potential source of pathogenic and multidrug-resistant motile *Aeromonas* spp. **Letters in Applied Microbiology**, v. 72, n. 1, p. 2–12, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/lam.13373>. Acesso em: 23 nov. 2022.

IKEDA, P.; SEKI, M. C.; CARRASCO, A. O. T.; RUDIACK, L. V.; MIRANDA, J. M. D.; GONÇALVES, S. M. M.; HOPPE, E. G. L.; ALBUQUERQUE, A. C. A.; TEIXEIRA, M. M. G.; PASSOS, C. E.; WERTHER, K.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Evidence and molecular characterization of *Bartonella* spp. and hemoplasmas in neotropical bats in Brazil. **Epidemiology and Infection**, v. 145, n. 10, p. 2038–2052, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s0950268817000966>. Acesso em: 23 nov. 2022.

IPECE. Sistema de Informações Geossocioeconômicas do Ceará. **Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará**, 2022. Disponível em: <http://ipecedata.ipece.ce.gov.br/ipece-data-web>. Acesso em: 07 dez. 2022.

JOFFRIN, L.; DIETRICH, M.; MAVINGUI, P.; LEBARBENCHON, C. Bat pathogens hit the road: But which one? **PLOS Pathogens**, v. 14, n. 8, p. e1007134, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007134>. Acesso em: 7 fev. 2023.

JORGE, F. R.; MUÑOZ-LEAL, S.; DE OLIVEIRA, G. M. B.; SERPA, M. C. A.; MAGALHÃES, M. M. L.; DE OLIVEIRA, L. M. B.; MOURA, F. B. P.; TEIXEIRA, B. M.; LABRUNA, M. B. Novel *Borrelia* Genotypes from Brazil Indicate a New Group of *Borrelia* spp. Associated with South American Bats. **Journal of Medical Entomology**, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jme/tjac160>. Acesso em: 22 dez. 2022.

JUNG, K.; KALKO, E. K. V. Adaptability and vulnerability of high flying Neotropical aerial insectivorous bats to urbanization. **Diversity and Distributions**, v. 17, p. 262–274, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2010.00738.x>. Acesso em: 23 nov. 2022.

KONEMAN, E. W., Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido, 6.ed., Cleveland: **Guanabara Koogan**, 2018.

KUZMIN, I. V.; BOZICK, B.; GUAGLIARDO, S. A.; KUNKEL, R.; SHAK, J. R.; TONG, S.; RUPPRECHT, C. E. (2011). Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited. **Emerging Health Threats Journal**, 4(1), 7159. Disponível em: <https://doi.org/10.3402/ehth.v4i0.7159>. Acesso em: 23 nov. 2022.

LEBOFFE, M. J.; PIERCE, B. E. A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory, 4th ed., **Morton Publishing Company**, 2011.

LEIGUE DOS SANTOS, L.; MONTIANI-FERREIRA, F.; LIMA, L.; LANGE, R.; DE BARROS FILHO, I. R. Bacterial microbiota of the ocular surface of captive and free-ranging microbats: *Desmodus Rotundus*, *Diameus youngi* and *Artibeus lituratus*. **Veterinary Ophthalmology**, v. 17(3), p. 157–161, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vop.12054>. Acesso em: 23 nov. 2022.

LEROY, S; VERMASSEN, A; RAS, G; TALON, R. Insight into the Genome of *Staphylococcus xylosum*, a Ubiquitous Species Well Adapted to Meat Products. **Microorganisms**, v. 5, p. 52, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030052>. Acesso em: 23 nov. 2022.

LETKO, M.; SEIFERT, S. N.; OLIVAL, K. J.; PLOWRIGHT, R. K.; MUNSTER, V. J. Bat-borne virus diversity, spillover and emergence. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18(8), 461–471, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0394-z>. Acesso em: 23 nov. 2022.

LI, J.; LI, L.; JIANG, H.; YUAN, L.; ZHANG, L.; MA, J.; ZHANG, X.; CHENG, M.; CHEN, J. Fecal bacteriome and mycobiome in bats with diverse diets in South China. **Current Microbiology**, v. 75, n. 10, p. 1352–1361, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1530-0>. Acesso em: 24 jan. 2023.

MAPA. Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos antimicrobianos no âmbito da Agropecuária. Versão 1.0. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2018. Disponível em: <https://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 08 dez. 2022.

MCDOUGALL, F. K.; BOARDMAN, W. S. J.; POWER, M. L. Characterization of beta-lactam-resistant *Escherichia coli* from Australian fruit bats indicates anthropogenic origins. **Microbial Genomics**, v. 7, n. 5, 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01536.x>. Acesso em: 23 nov. 2022.

MCDOUGALL, F. K.; WYRES, K. L.; JUDD, L. M.; BOARDMAN, W. S. J.; HOLT, K. E.; POWER, M. L. Novel strains of *Klebsiella africana* and *Klebsiella pneumoniae* in Australian fruit bats (*Pteropus poliocephalus*). **Research in Microbiology**, v. 172, n. 7–8, p. 103879, 2021b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2021.103879>. Acesso em: 23 nov. 2022.

MCEWEN, S.A.; COLLIGTON, P. J. Antimicrobial resistance: a one health perspective. **Microbiology Spectrum**, v. 6(2), 2018. Disponível em: doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017. Acesso em: 23 nov. 2022.

MEDIAVILLA, J. R.; CHEN, L.; MATHEMA, B.; KREISWIRTH, B. N. Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). **Current Opinion in Microbiology**, v. 15, n. 5, p. 588–595, out. 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2012.08.003>. Acesso em: 23 nov. 2022.

MÜHLDORFER, K. Bats and Bacterial Pathogens: A Review. **Zoonoses and Public Health**, v.60(1), 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01536.x>. Acesso em: 23 nov. 2022.

NEMEGHAIRE, S; ARGUDÍN, M. A.; FESSLER, A. T.; HAUSCHILD, T.; SCHWARZ, S.; BUTAYE, P. The ecological importance of the *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. **Veterinary Microbiology**, v. 171, p. 342–356, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.005>. Acesso em: 23 nov. 2022.

NEWMAN, M. M.; KLOEPPER, L. N.; DUNCAN, M.; MCINROY, J. A.; KLOEPPER, J. W. Variation in Bat Guano Bacterial Community Composition With Depth. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00914>. Acesso em: 23 nov. 2022.

NOWAKIEWICZ, A.; ZIEBA, P.; GNAT, S.; TROSCIANZCZYK, A.; OSINSKA, M.; LAGOWSKI, D.; KOSIOR-KORZECKA, U.; PUZIO, I. Bats as a reservoir of resistant *Escherichia coli*: A methodical view. Can we fully estimate the scale of resistance in the reservoirs of free-living animals? **Research in Veterinary Science**, v. 128, p. 49-58, 2020a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.10.017>. Acesso em: 23 nov. 2022.

NOWAKIEWICZ, A.; ZIEBA, P.; GNAT, S.; OSIŃSKA, M.; ŁAGOWSKI, D.; KOSIOR-KORZECKA, U.; PUZIO, I.; KRÓL, J. Analysis of the occurrence and molecular characteristics of drug-resistant strains of *Enterococcus faecalis* isolated from the gastrointestinal tract of insectivorous bat species in Poland: A possible essential impact on the spread of drug resistance? **Environmental Pollution**, v. 269, p. 116099, 2020b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116099>. Acesso em: 25 jan. 2023.

NUNES, H.; ROCHA, F. L.; CORDEIRO-ESTRELA, P. Bats in urban areas of Brazil: roosts, food resources and parasites in disturbed environments. **Urban Ecosystems**, v. 20, n. 4, p. 953–969, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11252-016-0632-3>. Acesso em: 23 nov. 2022.

NÚÑEZ-MONTERO, K.; SANTOS, A.; QUEZADA-SOLIS, D.; MARTÍNEZ-URTAZA, J.; LISÓN, F.; BARRIENTOS, L. X.; BARGETTO, D. B. Bacterial communities in fecal samples of *Myotis chiloensis* from La Araucanía, Chile. **International Journal of Morphology**, v. 39(1), 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.4067/s0717-95022021000100057>. Acesso em: 23 nov. 2022.

OMS. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. **Organização Mundial da Saúde**, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news->

room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed. Acesso em: 23 nov. 2022.

OBODOECHI, L. O.; CARVALHO, I.; CHENOUF, N. S.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, S.; SADI, M.; NWANTA, J. A.; CHAH K. F.; TORRES, C. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from frugivorous (*Eidolon helvum*) and insectivorous (*Nycteris hispida*) bats in Southeast Nigeria, with detection of CTX-M-15 producing isolates. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101613>. Acesso em: 23 nov. 2022.

POPOV, I. V.; MAZANKO, M. S.; KULAEVA, E. D.; GOLOVIN, S. N.; MALINOVKIN, A. V.; ALESHUKINA, I. S.; ALESHUKINA, A. V.; PRAZDNOVA, E. V.; TVERDOKHLEBOVA, T. I.; CHIKINDAS, M. L.; NERMAKOV, A. M. Gut microbiota of bats: Pro-mutagenic properties and possible frontiers in preventing emerging disease. **Scientific Reports**, v. 11(1), 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00604-z>. Acesso em: 23 nov. 2022.

RADHOUANI, H.; SILVA, N.; POETA, P.; TORRES, C.; CORREIA, S.; IGREJAS, G. Potential impact of antimicrobial resistance in wildlife, environment and human health. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00023>. Acesso em: 23 nov. 2022.

ROCHA, C. A.; LIMA, J. L. R.; MENDONÇA, K. V.; MARQUES, E. V.; ZANELLA, M. E.; RIBEIRO, J. P.; BERTONCINI, B. V.; CASTELO BRANCO, V. T. F.; CAVALCANTE, R. M. (2020). Health impact assessment of air pollution in the metropolitan region of Fortaleza, Ceará, Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 241, 117751, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2020.117751>. Acesso em: 23 nov. 2022.

SAKOU, S.; DERDAK, R.; ADDOUM, B.; POP, O. L.; VODNAR, D. C.; SUHAROSCHI, R.; SOUKRI, A.; EL KHALFI, B. The first study of probiotic properties and biological activities of lactic acid bacteria isolated from Bat guano from Er-rachidia, Morocco. **LWT**, v. 159, p. 113-224, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113224>. Acesso em: 24 jan. 2023.

SELVIN, J.; LANONG, S.; SYIEM, D.; MANDAL, S. D.; KAYANG, H.; KUMAR, N. S.; KIRAN, G. S. Culture-dependent and metagenomic analysis of lesser horseshoe bats' gut microbiome revealing unique bacterial diversity and signatures of potential human pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 137, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103675>. Acesso em: 23 nov. 2022.

SENS-JUNIOR, H.; TRINDADE, W. A.; OLIVEIRA, A. F.; ZANIOLO, M. M.; SERENINI, G. F.; ARAUJO-CERANTO, J. B.; GONÇALVES, D. D.; GERMANO, R. M. Bacterial resistance in bats from the Phyllostomidae Family and its relationship with unique health. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38(6), p.1207-1216, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5185>. Acesso em: 23 nov. 2022.

SIBBR. Chiroptera Blumenbach, 1779. **Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira**, 2020. Disponível em: <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/170873>. Acesso em: 23 nov. 2022.

SILVERIO, M. P.; KRAYCHETE, G. B.; ROSADO, A. S.; BONELLI, R. R. *Pseudomonas fluorescens* Complex and Its Intrinsic, Adaptive, and Acquired Antimicrobial Resistance Mechanisms in Pristine and Human-Impacted Sites. **Antibiotics**, v. 11, n. 8, p. 985, 2022. Disponível em: <http://doi.org/10.3390/antibiotics11080985>. Acesso em: 19 jan. 2023.

SUN, D-L.; GAO, Y-Z.; GE, X-Y.; SHI, Z-L.; ZHOU, N-Y. Special Features of Bat Microbiota Differ From Those of Terrestrial Mammals. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01040>. Acesso em: 23 nov. 2022.

UDDIN, M.; SAMAD, M. A.; RAHMAN, M. K.; ISLAM, S.; HOSSAIN, M. S.; SAGOR, M. S.; ROSTAL, M.; GIASUDDIN, M.; FLORA, M. S.; EPSTEIN, J. H.; CHAWDHURY, S.; ISLAM, A. Ecology of bat drinking behaviour and AMR patterns of *Sal* spp., *Staphylococcus* spp. and *E. coli* recovered from fecal droppings of bats and water in BD. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 101, p. 8, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.060>. Acesso em: 24 jan. 2023.

VAN DOORN, H. R. Emerging infectious diseases. **Medicine**, 42(1), 60–63, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2013.10.014>. Acesso em: 23 nov. 2022.

VANDŽUROVÁ, A.; BAČKOR, P.; JAVORSKÝ, P.; PRISTAŠ, P. *Staphylococcus nepalensis* in the guano of bats (Mammalia). **Veterinary Microbiology**, v. 164, n. 1–2, p. 116–121, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.01.043>. Acesso em: 23 nov. 2022.

WALES, A. D.; CARRIQUE-MAS, J. J.; RANKIN, M.; BELL, B.; THIND, B. B.; DAVIES, R. H. Review of the Carriage of Zoonotic Bacteria by Arthropods, with Special Reference to Salmonella in Mites, Flies and Litter Beetles. **Zoonoses and Public Health**, 2010. Disponível em: doi: 10.1111/j.1863-2378.2008.01222.x. Acesso em: 24 jan. 2023.

WANG, L. F.; ANDERSON, D. E. Viruses in bats and potential spillover to animals and humans. **Current Opinion in Virology**, v. 34, p. 79–89, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.12.007>. Acesso em: 23 nov. 2022.

WEINBERG, M.; YOVEL, Y. Revising the paradigm: Are bats really pathogen reservoirs or do they possess an efficient immune system? **IScience**, 25(8), 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104782>. Acesso em: 23 nov. 2022.

WITT, A. A.; GRILLO, H. C. Z. Guia de Manejo e Controle de Morcegos. Técnicas de Identificação, captura e coleta. **Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do Sul (CEVS/RS)**, 2ª ed. 2018. Disponível em: <https://www.cevs.rs.gov.br>. Acesso em: 23 nov. 2022.