

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

Janira Prichula

***Enterococcus* spp. associados a
animais marinhos selvagens:
genômica comparativa, filogenômica
e identificação de moléculas
bioativas**

UFCSPA

Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

Porto Alegre
2020

Janira Prichula

***Enterococcus* spp. associados a
animais marinhos selvagens:
genômica comparativa, filogenômica
e identificação de moléculas
bioativas**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Biociências da Fundação Universidade
Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
como requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutora.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana Seixas
Coorientadores: Prof. Dr. Pedro Alves d'Azevedo
Prof.^a Dr.^a Ana Paula Guedes Frazzon

**Porto Alegre
2020**

Catálogo na Publicação

Prichula, Janira

Enterococcus spp. associados a animais marinhos selvagens: genômica comparativa, filogenômica e identificação de moléculas bioativas / Janira Prichula.
-- 2020.

244 f. : 30 cm.

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em BioCiências, 2020.

Orientador(a) Adriana Seixas; coorientador(a): Ana Paula Guedes Frazzon, Pedro Alves d'Azevedo.

1. Enterococcus spp.. 2. genômica comparativa. 3. filogenômica. 4. compostos bioativos. 5. animais marinhos selvagens. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a).

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

Este trabalho de pesquisa foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Molecular e no Laboratório de Cocos Gram-Positivos da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Parte da pesquisa foi realizada durante período de Doutorado Sanduíche (junho de 2016 a junho de 2017), no Laboratório do Prof. Ph.D. Michael S. Gilmore (*Gilmore's Lab.*), na Universidade de Harvard, Boston, Estados Unidos.

O estudo obteve apoio financeiro dos seguintes órgãos de fomento brasileiros: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). Este estudo também contou com o apoio estrangeiro do grupo de pesquisa do Prof. Ph.D. Michael S. Gilmore e da Universidade de Harvard.

AGRADECIMENTOS

À UFCSPA, à UFRGS, à HARVARD UNIVERSITY e às agências de fomento (CNPq e CAPES), que possibilitaram a realização desta Tese de Doutorado.

À Prof.^a Dra. **Adriana Seixas**, pela vivência agradável, pelo carinho, pelo incentivo e por todo o conhecimento compartilhado durante todo o período de orientação de Doutorado.

Aos meus coorientadores, Prof.^a Dr.^a **Ana Paula Guedes Frazzon** e Prof. Dr. **Pedro Alves d'Azevedo**, e ao Prof. Dr. **Jeverson Frazzon**, por todos os ensinamentos e contribuições para minha qualificação profissional ao longo dos últimos dez anos, por despertarem meu interesse pelo mundo fascinante dos enterococos e me incentivarem sempre.

Ao Prof. Ph.D. **Michael S. Gilmore**, pela oportunidade de experienciar um excelente ambiente internacional de pesquisa acadêmica, no âmbito das pesquisas científicas envolvendo as áreas biomédicas. Agradeço por ter me concedido uma bolsa de estudos e por me convidar a participar em disciplinas na Universidade de Harvard, a qual é conhecida por sua excelência em Ensino e Pesquisa. Sobretudo, por ser uma inspiração como ser humano – por sua empatia e sua simplicidade com os demais – e profissional – pela qualidade e pela inteligência com que realiza o delineamento de seus projetos pesquisas. Ainda, por me oportunizar a vivência com pesquisadores tão incríveis e, enfim, por contribuir imensamente para a realização deste estudo.

Aos membros da Banca Examinadora, Prof.^a Dr.^a **Marisa Fabiana Nicolás**, Prof. Dr. **João Carlos Setubal** e Prof. Dr. **Rodrigo Ligabue-Braun**, pela disponibilidade e pela colaboração, aceitando o convite para fazer parte da banca deste trabalho.

Ao biólogo **Maurício Tavares**, do Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos (CECLIMAR), do Instituto de Biociências da UFRGS, pelos inúmeros aprendizados sobre a vida marinha e por colaborar com as coletas das amostras que foram objeto deste estudo.

Ao Grupo de Pesquisa ENTEROMAR, em especial, aos alunos de iniciação científica, **Ícaro Castro**, **Luís Eduardo Barbosa**, **Meiski Vedovatto** e **Romeu Luz**, pela ajuda, pela responsabilidade e pela competência que demonstraram ao longo do desenvolvimento de projetos vinculados a esta Tese de Doutorado. Agradeço também pelos inúmeros bons momentos de descontração, amizade e carinho, que resultaram em um convívio em grupo harmonioso e produtivo.

Aos colegas de pós-graduação e professores do Laboratório de Cocos Gram-positivos da UFCSPA: **Adriana Rossato**, **Cezar Riche**, **Cícero Dias**, **Danielle Trentin**, **Fernanda Rossato**, **Gabriela Cunha**, **Gustavo Sambrano**, **Juliana**

Comerlato, Karine Zimmer, Kauana Pizzutti, Mariana Mott, Muriel Primon-Barros, Otávio Raro, Thiago Paim, Rebeca Inhoque, Renata Soares e Vlademir Cantarelli, pela troca de conhecimentos e pela amizade ao longo desse período de qualificação profissional.

Às minhas colegas de trabalho da UFCSPA, **Ana Maris Carlesso, Isabel Pires, Michele Silveira e Monice Santana**, pelo apoio e pela compreensão nos momentos de ausência no trabalho devido a experimentos e disciplinas do Doutorado. Agradeço também pelo incentivo nos períodos de cansaço e dificuldades, pelo carinho e pelas muitas risadas todos os dias.

À amiga **Fernanda Côrte Real Corrêa**, pelo apoio e pelo comprometimento com os projetos do Núcleo de Gestão Ambiental e também pela linda amizade compartilhada ao longo desses anos.

À amiga **Clara Heinrich**, bióloga e ilustradora, por aceitar participar de todas as minhas ideias pretensiosas e por ter paciência para me ensinar o tracejado delicado e a perspectiva tridimensional, os quais contribuíram imensamente para a construção das ilustrações deste trabalho.

Aos meus amigos **Evan, Finn, Paulo, Petra, Sabine e Sarabeth**, pelo apoio e pela linda amizade durante o período em que morei em Boston. Pelas inúmeras aventuras e momentos inesquecíveis, sempre vou guardá-los com muito carinho em minhas memórias.

Aos meus tios, **Egídio, Maria, Mira e Zeneide**, por me acolherem e apoiarem quando vim para Porto Alegre, dando o suporte financeiro e afetivo necessário, que possibilitou que eu conseguisse realizar meus estudos e trilhar meu caminho, mais tarde, de maneira independente.

À minha família, minha **mãe** e meus **irmãos**, em especial, à minha irmã, **Jacira Prichula**, pelo apoio e pela atenção em todos os momentos de minha vida.

Por fim, agradeço a todos os que compartilharam esse período comigo. Meu amor pela ciência tem me mostrado que a busca pelo conhecimento é realmente uma jornada transformadora.

Muito obrigada!

As atividades impactantes dos seres humanos sobre os ambientes naturais têm contribuído para a perda gradativa da biodiversidade do planeta.

A fragmentação e a destruição de habitats, a introdução de espécies exóticas, a exploração excessiva dos recursos naturais e a poluição demonstram a nossa falta de cuidado com o meio ambiente.

O processo de extinção é um fenômeno natural durante a evolução das espécies. Entretanto, o que vem ocorrendo na atualidade é uma aceleração desses processos evolutivos e, conseqüentemente, as taxas de extinção são superiores às esperadas.

É importante salientar que o que se defende não é a exclusão do ser humano da natureza.

Almejamos um convívio com as demais espécies que integram o meio ambiente conduzido de forma dinâmica (e racional), respeitando algumas limitações em detrimento das demais e de nossa própria espécie, utilizando os recursos naturais com cautela e de forma sustentável, adotando medidas para diminuir a poluição ambiental, entre outros pontos relevantes ao se tratar da conservação da biodiversidade.

Isso posto, dedico este trabalho às atuais e às futuras gerações, esperando que elas possam compreender o valor intrínseco das diferentes espécies na natureza, já que delas dependerá a preservação dos nossos ecossistemas naturais nos próximos anos.

Desejo, sobretudo, que elas entendam, experienciem e valorizem a sublime diversidade marinha, assim como eu tive essa gratificante oportunidade.

Follow, follow the sun

And which way the wind blows

When this day is done

[...]

So follow, follow the sun

The direction of the birds

The direction of love

Breathe, breathe in the air

Cherish this moment

Cherish this breath

Tomorrow's a new day for everyone

brand new moon, brand new sun

When you feel life coming down on you like a heavy weight

When you feel this crazy society adding to the strain

Take a stroll to the nearest water's edge, remember your place

Many moons have risen and fallen long, long before you came

So which way is the wind blowing

And what does your heart say?

So follow, follow the sun

And which way the wind blows

When this day is done.

Xavier Rudd, Follow the sun

***Enterococcus* spp. associados a animais marinhos selvagens: genômica comparativa, filogenômica e identificação de moléculas bioativas¹**

RESUMO

Os estudos genômicos têm contribuído muito para o entendimento da virulência, da biologia e da evolução das bactérias do gênero *Enterococcus*. Todavia, o foco tem sido amplamente direcionado às análises comparativas de genomas de linhagens clínicas relevantes, havendo poucos trabalhos sobre enterococos de ecologias selvagens. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo realizar uma caracterização em nível genômico de *Enterococcus* spp. recuperados da microbiota de aves, répteis e mamíferos marinhos selvagens encontrados na costa sul do Brasil. Bibliotecas de DNA genômico de 27 *Enterococcus* spp. isolados de 17 animais marinhos foram preparadas, e o sequenciamento do genoma foi realizado usando-se a Plataforma Illumina MiSeq e HiSeq. Primeiramente, foi realizado um estudo com as linhagens de *Enterococcus* spp. provenientes de pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) e outro estudo relacionando as linhagens provenientes de diferentes aves (*Spheniscus magellanicus* e *Sterna trudeaui*), répteis (*Chelonia mydas* e *Eretmochelys imbricata*) e mamíferos marinhos (*Arctocephalus australis*, *Grampus griseus* e *Balaenoptera acutorostrata*). Os estudos avaliaram a diversidade genética e a presença de elementos associados ao sucesso de colonização e plasticidade genômica. Foram investigados genes de resistência, virulência, CRISPRs, plasmídeos e genes que codificam moléculas bioativas. Os resultados, obtidos por meio de análises filogenômicas e de genômica comparativa, demonstraram que os enterococos de animais marinhos selvagens apresentam poucos determinantes relacionados à virulência, não estando intimamente relacionados com linhagens clínicas. Algumas espécies de enterococos podem, inclusive, servir como bioindicadores do ecossistema marinho e de impactos antrópicos. Além disso, enterococos associados às espécies marinhas se mostraram uma fonte importante de novos compostos para aplicação biotecnológica. Foi encontrado um número expressivo de agrupamentos de genes relacionados a moléculas antimicrobianas, sendo os mais abundantes os que codificam bacteriocinas, seguidos pelos envolvidos em rotas de síntese de terpenos e de peptídeos não ribossomais (NRPS). Trinta diferentes bacteriocinas pertencentes a diferentes classes foram descritas, incluindo oito novas moléculas com potencial bioativo a ser investigado. A caracterização em nível genômico possibilitou, também, a identificação de dois isolados, um pertencente à espécie *E. avium* e outro da espécie *E. mundtii*, com potencial probiótico. Dessa forma, o grande número de informações geradas por este trabalho pode ser explorado em vários aspectos, incluindo desde propósitos ambientais, ecológicos e evolutivos até biotecnológicos, como a identificação de potenciais linhagens probióticas e a elucidação de novos compostos bioativos.

Palavras-chave: *Enterococcus* spp., genômica comparativa, compostos bioativos, animais marinhos selvagens.

¹ Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biociências – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil. (244 p.). Janeiro, 2020.

Wild marine animal-associated enterococci: comparative genomics, phylogenomics, and identification of bioactive molecules²

ABSTRACT

Genomic studies have greatly contributed to the understanding of virulence, biology and evolution of *Enterococcus* spp. However, the focus has been largely on comparative genome analyses of relevant clinical lineages, with few studies on wild-type enterococci. In this sense, the present study aimed to perform a genomic characterization of *Enterococcus* spp. recovered from the microbiota of birds, reptiles and wild marine mammals found on the Southern coast of Brazil. Genomic DNA libraries of 27 *Enterococcus* spp. isolated from 17 marine animals were prepared and genome sequencing was performed using the MiSeq and HiSeq Illumina Platforms. Firstly, a study was performed with *Enterococcus* spp. from Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) and a second relating lineages from different sea birds (*Spheniscus magellanicus* and *Sterna trudeaui*), reptiles (*Chelonia mydas* and *Eretmochelys imbricata*) and marine mammals (*Arctocephalus australis*, *Grampus griseus* and *Balaenoptera acutorostrata*). Studies evaluating genetic diversity and the presence of elements associated with successful colonization and genomic plasticity. Resistance genes, virulence, CRISPRs, plasmids and bioactive compounds encoding genes were investigated. The results, obtained through phylogenomic and comparative genomic analyses, showed that the enterococci from wild marine animals present few determinants related to virulence, not being closely related to clinical lineages. Some species of enterococci may even serve as a sensitive indicator of marine ecosystem health and anthropic impact. In addition, enterococci associated with marine species have proved to be an important source of new compounds for biotechnological application. A significant number of biosynthetic gene clusters were found, being the bacteriocins encoding genes the most abundant, followed by those related to terpene and non-ribosomal peptide (NRPS) synthesis pathways. Thirty different bacteriocins belonging to different classes were described, including eight new molecules with bioactive potential to be investigated. The genomic characterization also allowed the identification of two isolates, one belonging to the species *E. avium* and another to the species *E. mundtii*, with potential probiotic application. Thus, the genomic information generated by this study can be used in many aspects, ranging from environmental, ecological and evolutive aspects to biotechnological purposes, such as the elucidation of new bioactive compounds and the identification of potential probiotic lineages.

Keywords: *Enterococcus* spp., comparative genomic, bioactive compounds, wild marine animals.

² PhD Thesis of the Graduate Program in Biosciences – Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil. (244 p.). January 2020.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Linha do tempo de eventos relevantes na história dos enterococos como patógenos humanos, aparecimento de resistência a antibióticos e utilização clínica de antibióticos.....	55
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies de animais marinhos, nomes populares e categorias de risco segundo a lista vermelha da IUCN (2019).....	27
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

Agg:	<i>Aggregation substance</i>
ANI:	<i>Average Nucleotide Identity</i>
BASP:	<i>Bayesian Analysis of Population Structure</i>
CDC:	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CECLIMAR:	Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos
CERAM:	Centro de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos
cgMLST:	<i>Core genome MultiLocus Sequence Typing</i>
CR:	<i>Critically Endangered</i>
CRAM:	Centro de Recuperação de Animais Marinhos
CRISPRs:	<i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i>
EM:	<i>Endangered</i>
Esp:	<i>Enterococcal surface protein</i>
FEPAM:	Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler
GeIE:	Enzima gelatinase
HGT:	<i>Horizontal Gene Transfer</i>
IBGE:	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMBio:	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IS:	<i>Insertion Sequences</i>
IUCN:	<i>International Union for Conservation of Nature</i>
LAB:	<i>Lactic Acid Bacteria</i>
LC:	<i>Least Concern</i>
MLST:	<i>MultiLocus Sequence Typing</i>
MRSA:	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NGS:	<i>Next Generation Sequencing</i>
NT:	<i>Near Threatened</i>
PAI:	<i>Pathogenicity island</i>
PFGE:	<i>Pulsed-Field Gel Electrophoresis</i>
<i>pheS</i>:	<i>Phenylalanine tRNA synthase</i>
PYR:	<i>L-pirrolidonil-β-naftilamida</i>
RAPD:	<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>
<i>rpoA</i>:	<i>RNA polymerase, alpha subunit</i>
rRNA:	Ácido ribonucleico ribossomal
SNP:	<i>Single-Nucleotide Polymorphism</i>
TET:	Tetraciclina
TGI:	Trato gastrointestinal
<i>tufA</i>:	<i>Elongation factor Tu</i>
VAN:	Vancomicina
VRE:	<i>Vancomycin-Resistant Enterococci</i>
VU:	<i>Vulnerable</i>
WGS:	<i>Whole Genome Sequencing</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Os animais marinhos e a sua relação com o ambiente costeiro do Brasil	15
1.2 Aves marinhas.....	17
1.2.1 Pinguim-de-Magalhães (<i>Spheniscus magellanicus</i> Forster, 1781)	18
1.2.2 Trinta-réis-de-coroa-branca (<i>Sterna trudeau</i> Audubon, 1838) ..	20
1.3 Répteis marinhos	20
1.3.1 Tartaruga-verde (<i>Chelonia mydas</i> Linnaeus, 1758).....	21
1.3.2 Tartaruga-de-pente (<i>Eretmochelys imbricata</i> Linneus, 1766)	22
1.4 Mamíferos marinhos	23
1.4.1 Lobo-marinho-sul-americano (<i>Arctocephalus australis</i> Zimmermann 1783)	24
1.4.2 Golfinho-de-Risso (<i>Grampus griseus</i> G. Cuvier, 1812).....	25
1.4.3 Baleia-minke (<i>Balaenoptera acutorostrata</i> Lacépède, 1804).....	26
1.5 Microbiota intestinal	30
1.6 O gênero <i>Enterococcus</i> spp.	31
1.6.1 Taxonomia	31
1.6.2 Biologia	35
1.6.3 Ecologia	36
1.6.4 Genoma.....	44
1.6.6 Bacteriocinas.....	56
1.6.6.1 Classificação das enterocinas	57
1.6.6.1.1 Classe I: Lantibióticos	58
1.6.6.1.2 Classe II: Peptídeos não modificados e não lantibióticos.....	58
1.6.6.2 Aplicações biotecnológicas	60
1.6.6.3 Tecnologia de alimentos	60
1.6.6.4 Probióticos	62
1.6.6.5 Potenciais agentes anticâncer	63
1.6.6.6 Potenciais agentes antibióticos	65
1.7 Pipelines para análise de dados genômicos	68

2 OBJETIVOS.....	71
2.1 Objetivo geral	71
2.2 Objetivos específicos	71
3 METODOLOGIA	73
4 RESULTADOS.....	74
4.1. Enterococos de pinguins-de-Magalhães selvagens (<i>Spheniscus magellanicus</i>) fornecem um indicador sensível da saúde do ecossistema marinho e do impacto humano	80
Artigo 1 – <i>Enterococci from wild Magellanic penguins (<i>Spheniscus magellanicus</i>) provides a sensitive indicator of marine ecosystem health and human impact</i>	80
4.2 Mineração de genomas de enterococos associados a animais marinhos selvagens por compostos antimicrobianos	138
Artigo 2 – <i>Genome mining for antimicrobial compounds in wild marine animals-associated enterococci</i>	138
4.3 JAMIRA: um <i>pipeline</i> reprodutível e escalável para análise genômica de procariotos	187
Artigo 3 – <i>JAMIRA: a reproducible and scalable pipeline for genomic analysis of prokaryotes</i>	187
4.4 Uma ferramenta simples para visualização posicional dos resultados gerados pelas plataformas de análise genômica comparativa de procariotos	193
Artigo 4 – <i>A simple tool for positional view of results generated by comparative genomic analysis platforms of prokaryotes</i>	193
5 DISCUSSÃO	198
6 CONCLUSÃO	205
REFERÊNCIAS.....	207
APÊNDICE A – CURRÍCULO LATTES.....	233

1 INTRODUÇÃO

1.1 Os animais marinhos e a sua relação com o ambiente costeiro do Brasil

O Brasil, devido a sua dimensão continental e a sua grande variação geomorfológica e climática, é um dos países com maior diversidade biológica do mundo, incluindo mais de 104.546 espécies animais e 43.893 espécies vegetais já descritas (BRASIL, 2016). Essas espécies estão distribuídas em seis biomas terrestres – Floresta Amazônica, Pantanal, Cerrado, Caatinga, Pampa e Mata Atlântica – e em ecossistemas marinhos – manguezais, recifes de corais, dunas, restingas, praias arenosas, costões rochosos, lagoas, estuários e marismas (INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBio, 2019).

A região litorânea brasileira se estende da foz do rio Oiapoque, no Amapá, até o Chuí, no Rio Grande do Sul. Essa faixa compreende mais de 8.500 quilômetros, abrangendo 17 estados e mais de 400 municípios, distribuídos do norte equatorial ao sul temperado do país, na sua porção terrestre (BRASIL, 2019a). A região apresenta, ainda, uma porção marítima, que inclui o mar territorial, zona contígua e zona econômica exclusiva, ao longo de 370,4 quilômetros a partir da região costeira (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2011). Por conseguinte, o Brasil sustenta uma grande diversidade de ecossistemas costeiros e marinhos, que prestam serviços ambientais e que servem de hábitat para diversas espécies, as quais dependem desses ambientes para o seu ciclo biológico.

O Estado do Rio Grande do Sul (RS) está inserido nessa faixa litorânea, envolvendo cerca de 620 quilômetros de costa retilínea, ao longo de 46 municípios, no sentido norte-sul (FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PROTEÇÃO AMBIENTAL HENRIQUE LUIZ ROESSLER – FEPAM, c2019). No litoral do RS, ocorre o encontro de duas correntes marítimas importantes, a Corrente do Brasil e a Corrente das Malvinas, formando a chamada *Zona de Convergência Subtropical do Atlântico Sul Ocidental*.

As águas quentes das correntes do norte (Brasil) em contato com as águas frias da corrente do sul (Malvinas) promovem a precipitação de muitos nutrientes nessa região (ICMBio, 2019). Além disso, o mar associa-se a ambientes estuarinos e a diversos sangradouros, aumentando o aporte nutricional (MÄDER, 2010). Por ser caracterizada por uma massa d'água rica em nutrientes, a Zona de Convergência Subtropical do Atlântico Sul atrai uma grande diversidade de animais, como aves marinhas, tartarugas, lobos marinhos, golfinhos e baleias (CENTRO DE ESTUDOS COSTEIROS, LIMNOLÓGICOS E MARINHOS – CECLIMAR, 2019; GRUPO DE ESTUDOS DE MAMÍFEROS AQUÁTICOS DO RIO GRANDE DO SUL – GEMARS, 2015).

A região costeira do RS possui áreas de importância ambiental internacional para animais marinhos, residentes ou migratórios, sendo, assim, considerada uma região de importância extrema no que concerne às necessidades de conservação da diversidade biológica. A região abriga um Sítio Ramsar³ (o Parque Nacional da Lagoa do Peixe e a Estação Ecológica do Taim),

³ Sítio Ramsar é uma zona úmida de importância internacional que serve, principalmente, como habitat para aves aquáticas residentes e migratórias. A Lista de Ramsar é o instrumento adotado pela Convenção Ramsar, tratado internacional aprovado em encontro realizado na cidade iraniana de Ramsar, em 1971, que teve como objetivo promover a cooperação entre países na conservação e no uso racional das zonas úmidas no mundo. O Tratado Internacional entrou em vigor em 1975, e o Brasil passou a participar apenas em 1993. O país apresenta, atualmente, 27

o Refúgio de Vida Silvestre da Ilha dos Lobos (REVIS da Ilha dos Lobos) e diversas áreas incluídas na Reserva da Biosfera (BRASIL, 2016; ICMBio, 2019; NÚCLEO DE EDUCAÇÃO E MONITORAMENTO AMBIENTAL – NEMA, 2019a). Por conseguinte, vários estudos salientam a relevância dos ambientes costeiros do RS para o ciclo biológico de diversos animais marinhos residentes e migratórios (NAKASHIMA, 2008; ROCHA-CAMPOS; CÂMARA, 2011; RUOPPOLO *et al.*, 2012; PETRY; SCHERER; SCHERER, 2012; OLIVEIRA, 2013; MÜLLER; BARROS, 2013; SILVA, 2014; MILMANN *et al.*, 2016).

1.2 Aves marinhas

Como forma de aproveitar os recursos disponíveis em ecossistemas marinhos, algumas aves terrestres se diversificaram em um grupo de espécies que se adaptaram de maneira eficiente a ambientes costeiros e oceânicos (BRANCO; BARBIERI; FRACASSO, 2010; LI *et al.*, 2014). Esse grupo de aves marinhas é formado por cerca de 350 espécies distribuídas em quatro ordens: Sphenisciformes, Procellariiformes, Pelecaniformes e Charadriiformes (HAMER; SCHREIBER; BURGER, 2002; INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE – IUCN, 2019; BIRDLIFE, c2019). Mais de cem espécies de aves marinhas (~150) são encontradas no Brasil; entretanto, apenas 18 podem ser encontradas nidificando no país (BRANCO; BARBIERI; FRACASSO, 2010). Dessa forma, muitas aves marinhas acabam aparecendo no litoral do RS, como, por exemplo, os pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus*

sítios na Lista de Ramsar; com isso, tem apoio para o financiamento de projetos. Em contrapartida, o Brasil assumiu o compromisso de manter suas características ecológicas, os elementos da biodiversidade, bem como os processos que os mantêm (BRASIL, 2019b).

magellanicus) e trinta-réis-de-coroa-branca (*Sterna trudeaui*) (CECLIMAR, 2019).

1.2.1 Pinguim-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus* Forster, 1781)

Os pinguins evoluíram de aves que voam e, há cerca de 55 milhões de anos, divergiram de seus parentes mais próximos, a ordem Procellariiformes (representada pelo *Fulmarus glacialis*), que é especializada em um estilo de vida marinho (LI *et al.*, 2014). A família Spheniscidae (Ordem: Sphenisciformes), conhecida como a família dos “pinguins”, é constituída por 6 gêneros e 18 espécies de pinguins (CERCHIARA, 2018; BIRDLIFE, 2018a). Existem registros de ocorrência de quatro espécies de pinguins no litoral sul do Brasil: o pinguim-rei (*Aptenodytes patagonicus*), o pinguim-de-penacho-amarelo (*Eudyptes chrysocome*), o pinguim-de-testa-amarela (*Eudyptes chrysolophus*) e o pinguim-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) (BENCKE *et al.*, 2010; CECLIMAR, 2019).

Os pinguins-de-Magalhães são conhecidos como embaixadores da Patagônia, devido a sua ampla distribuição ao longo da costa sudeste da América do Sul (BERTELLOTTI, 2013). Essas aves marinhas são nativas do sul da Argentina, do sul do Chile e das Ilhas Falkland. No entanto, adultos e jovens deixam suas colônias e migram milhares de quilômetros, no inverno, para o norte, em direção às costas do norte da Argentina, do Uruguai e do Brasil, seguindo o movimento da corrente das Malvinas (PÜTZ *et al.*, 2007; BIRDLIFE, 2018a).

Uma característica marcante desses pinguins é a faixa branca formada na região dos olhos e que se estende até o pescoço no animal adulto. A sua plumagem é negra nas costas e nas asas e branca na zona ventral e no pescoço. Os olhos, o bico e as patas são negros. Quando adultos, medem cerca de 70 centímetros e podem pesar até 5 quilogramas. A maturidade sexual é alcançada entre 4 e 7 anos (VANSTREELS *et al.*, 2012; BIRDLIFE, 2018a).

Os pinguins são exímios nadadores, possuem diversas modificações que lhes possibilitaram a adaptação ao ambiente marinho, como as seguintes: membros torácicos modificados em nadadeiras, pés com membranas interdigitais que atuam como leme, glândulas nasais para excreção de cloreto de sódio, ossos densos (não pneumáticos) e corpo fusiforme. Além disso, apresentam penas modificadas, que são achatadas e uniformes em seu tamanho, por todo o corpo. Essas penas aprisionam uma camada de ar na superfície do animal, ajudando a minimizar a perda de calor para o meio externo (HAMER; SCHREIBER; BURGER, 2002; BERTELLOTTI, 2013).

A dieta desses animais é amplamente carnívora, derivando quase exclusivamente do mar e sendo composta por peixes, crustáceos e moluscos (FONSECA; PETRY; JOST, 2001; PINTO; SICILIANO; BENEDITTO, 2007; BALDASSIN *et al.*, 2010, FERNANDEZ; YORIO; CIANCIO, 2019). A população mundial dessa espécie está diminuindo e está estimada em cerca de 1,3 milhão de pares reprodutores, sendo considerada quase ameaçada, de acordo com a *International Union for Conservation of Nature – IUCN* (Tabela 1) (BIRDLIFE, 2018a).

1.2.2 Trinta-réis-de-coroa-branca (*Sterna trudeaui* Audubon, 1838)

O trinta-réis-de-coroa-branca é conhecido como a andorinha do mar. Essa ave pertence à família Laridae (Ordem: Charadriiformes), vive em bandos e raramente sobrevoa o continente. Essa espécie é caracterizada por uma extensa faixa pós-ocular negra, bico de ponta amarelada (medialmente negro) e pernas amarelo-avermelhadas. Essas aves medem cerca de 40 centímetros de comprimento (BINI, 2014).

A alimentação do trinta-réis-de-coroa-branca é constituída de peixes pequenos, insetos e crustáceos (BINI, 2014). A espécie se reproduz no sudeste do Brasil, no Uruguai e ao sul da Patagônia. No inverno, move-se para o norte até o Peru, na costa oeste, e para o Brasil, na costa leste (MÄDER, 2011, BIRDLIFE, 2018b). Estima-se que a população seja de 670 a 6.700 indivíduos. A tendência populacional parece ser estável e, portanto, a espécie não se aproxima dos limiares de vulnerabilidade sob o critério de tendência populacional (declínio maior que 30% em dez anos ou três gerações) (Tabela 1) (BIRDLIFE, 2018b).

1.3 Répteis marinhos

As tartarugas marinhas compõem uma das mais antigas linhagens de répteis vivos. Vários estudos de genética e paleontologia têm sido realizados a fim de elucidar um pouco mais sobre a origem e a evolução das tartarugas, que teria acontecido há cerca de 250 milhões de anos (LEE, 2013; LYSON *et al.*, 2013). O Cretáceo (~140 milhões de anos atrás) foi o período de maior

diversificação desses animais, e havia quatro famílias: Toxochelyidae, Protostegidae, Cheloniidae e Dermochelyidae. Todavia, o registro fóssil mais antigo de tartaruga marinha data de aproximadamente 110 milhões de anos atrás e pertence à espécie *Santanachelys gaffneyi* (Protostegidae), encontrada no Ceará, Brasil (HIRAYAMA, 1998). Atualmente, existem duas famílias (Cheloniidae e Dermochelyidae), seis gêneros e sete espécies (HAYS, 2008; IUCN, 2019).

Das sete espécies de tartarugas marinhas existentes, cinco são encontradas no Brasil: *Dermochelys coriacea* (família: Dermochelyidae) e as espécies *Caretta caretta*, *Chelonia mydas*, *Eretmochelys imbricata* e *Lepidochelys olivacea* (família: Cheloniidae). *Natator depressus* e *Lepidochelys kempii* são espécies nativas da Austrália e da América do Norte (México e Estados Unidos), respectivamente (ICMBio, 2019; IUCN, 2019).

1.3.1 Tartaruga-verde (Chelonia mydas Linnaeus, 1758)

A tartaruga-verde é caracterizada por apresentar uma coloração verde-acinzentada e uma carapaça com quatro pares de placas laterais justapostas. A cabeça dessa espécie é diferenciada também, visto que possui um par de placas (ou escudos) pré-frontais e quatro pares de escudos pós-orbitais (MÁRQUEZ, 1990). Os animais adultos têm, em média, 1,2 metros de comprimento, podem chegar a pesar mais de 200 quilogramas, apresentam maturação sexual entre 26 e 40 anos e ciclo de vida longo (MOREIRA, 2003; SEMINOFF, 2004; FUNDAÇÃO PROJETO TAMAR, c2011b).

Os hábitos alimentares desses animais variam em função de seu período de desenvolvimento, sendo considerados onívoros os animais jovens, enquanto os adultos possuem dieta predominantemente herbívora (algas e ervas marinhas) (NAKASHIMA, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2011). As tartarugas-verdes são animais altamente migratórios, apresentam nidificação em mais de 80 países em todo o mundo e habitam águas costeiras de mais de 140 países (SEMINOFF, 2004). Entretanto, segundo a lista vermelha⁴ da IUCN, essa espécie está em perigo de extinção (Tabela 1).

1.3.2 Tartaruga-de-pente (Eretmochelys imbricata Linneus, 1766)

A tartaruga-de-pente apresenta coloração verde-amarelada, carapaça com quatro pares de placas laterais sobrepostas (imbricadas) e de coloração marrom. A cabeça é pequena e alongada, possui dois pares de placas (ou escudos) pré-frontais e três pares de pós-orbitais, e seu bico córneo assemelha-se ao de uma águia (MÁRQUEZ, 1990; FUNDAÇÃO PROJETO TAMAR, c2011a). No Brasil, há registros de comprimento curvilíneo de carapaça de até 110 centímetros; esses animais chegam a pesar, em média, 86 quilogramas (MORTIMER; DONNELLY, 2008; FUNDAÇÃO PROJETO TAMAR, c2011a).

Estima-se que, como no caso da *Chelonia mydas*, a maturação sexual desses animais também seja tardia (entre 20 e 40 anos). Essa espécie é,

⁴ A União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN) criou a Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas (em inglês, IUCN Red List ou Red Data List) em 1964. A lista é um catálogo que fornece informações com base científica sobre o estado das espécies e das subespécies em um nível global, contribuindo com informações para orientar ações que visem à conservação da diversidade biológica em todo o planeta.

frequentemente, encontrada em **recifes de** corais e águas costeiras rasas e, ocasionalmente, em águas profundas. Sua dieta é composta por esponjas, anêmonas, lulas e camarões (MORTIMER; DONNELLY, 2008; FUNDAÇÃO PROJETO TAMAR, c2011a). As tartarugas-de-pente estão distribuídas em águas tropicais e subtropicais dos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico. Todavia, em muitas partes do mundo, as populações dessa espécie estão diminuindo, o que leva a IUCN a considerá-las criticamente ameaçadas, com alto risco de extinção (Tabela 1) (MORTIMER; DONNELLY, 2008).

1.4 Mamíferos marinhos

Os mamíferos marinhos são classificados em três ordens (Classe: Mammalia). A ordem Cetacea inclui os botos, os golfinhos e as baleias; a Sirenia compreende os peixes-bois e os dugongos; a Carnivora abrange as lontras, os ursos polares e os membros da subordem Pinnipedia (MONTEIRO-FILHO *et al.*, 2013; SILVA, 2014).

A subordem Pinnipedia compõe-se de 34 espécies distribuídas em três famílias: Otariidae (lobo-marinho e leão-marinho), Phocidae (foca e elefante-marinho) e Odobenidae (morsas). Esses animais estão distribuídos em todos os oceanos, sendo mais numerosos nas águas frias das regiões Ártica e Antártica (MONTEIRO-FILHO *et al.* 2013; SILVA, 2014).

Na costa brasileira, há registros de ocorrência de sete espécies: *Arctocephalus australis*, *Arctocephalus gazela*, *Arctocephalus tropicalis*, *Hydrurga leptonyx*, *Lobodon carcinophagus*, *Mirounga leonina* e *Otaria flavescens* (ROCHA-CAMPOS; CÂMARA, 2011; NEMA, 2019b). A espécie de

lobo-marinho que aparece com maior frequência no litoral rio-grandense é *Arctocephalus australis* (lobo-marinho-sul-americano), embora já tenha sido registrada a ocorrência de *A. tropicalis* (lobo-marinho-subantártico) e *A. gazella* (lobo-marinho-antártico) (ROCHA-CAMPOS; CÂMARA, 2011; CECLIMAR, 2019).

1.4.1 Lobo-marinho-sul-americano (*Arctocephalus australis* Zimmermann, 1783)

O lobo-marinho-sul-americano é um pinípede (família: Otariidae), possui os membros anteriores e posteriores modificados em nadadeiras (do latim, pina = pena; podos = pés), com dedos longos e unidos por membranas que auxiliam durante a locomoção na água (SILVA, 2014). O que diferencia essa espécie é o focinho afinado (pontiagudo), grandes olhos, orelhas finas e compridas e pescoço grosso (OLIVEIRA, 2013; MONTEIRO-FILHO *et al.*, 2013). Além disso, os membros anteriores são maiores quando comparados aos de outras espécies de lobos-marinhos (NEMA, 2019b). Essa espécie apresenta o corpo delgado, coloração variando de cinza a marrom (fêmeas e jovens com tons cinza-escuro no dorso e ventre mais claro) e pelagem dupla (camada superior com pelos escuros e grossos e abaixo pelos mais claros, curtos e macios) (MONTEIRO-FILHO *et al.*, 2013).

Os animais alcançam, em média, dois metros e 180 quilogramas e maturam a partir de três anos (CÁRDENAS-ALAYZA; OLIVEIRA; CRESPO, 2016). A alimentação do lobo-marinho-sul-americano é composta, basicamente, por peixes, crustáceos, cefalópodes e outros invertebrados marinhos (OCEANA,

2019). A distribuição da espécie ocorre no sul da América do Sul, nos oceanos Atlântico e Pacífico. No Brasil, há dois locais de concentração invernal para descanso: o Refúgio de Vida Silvestre da Ilha dos Lobos (Torres) e o Refúgio de Vida Silvestre do Molhe Leste (São José do Norte), ambos no Estado do Rio Grande do Sul (ROCHA-CAMPOS; CÂMARA, 2011; MONTEIRO-FILHO *et al.*, 2013). A espécie é considerada de baixo risco pela IUCN, como pode ser visto na Tabela 1 (CÁRDENAS-ALAYZA; OLIVEIRA; CRESPO, 2016).

1.4.2 Golfinho-de-Risso (Grampus griseus G. Cuvier, 1812)

O golfinho-de-Risso é um cetáceo da família Delphinidae. Essa espécie apresenta uma cabeça globosa com um sulco na região anterior e não possui o rostro (estrutura que se assemelha a um bico) proeminente característico dos golfinhos. A linha da boca tem o contorno inclinado para cima (criando a ilusão de que o animal está sorrindo). Além disso, a espécie apresenta uma área branca em forma de âncora entre os peitorais e ao redor da boca. A estrutura do corpo é robusta, especialmente a metade anterior, visto que o pedúnculo caudal é mais estreito (UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS, c2019; INSTITUTO DA CONSERVAÇÃO DA NATUREZA E DAS FLORESTAS – ICNF, 2019b; MIRANDA *et al.*, 2019).

Os padrões de coloração mudam ao longo do estágio de desenvolvimento. Indivíduos jovens apresentam tonalidade acinzentada na região dorsal, enquanto a parte ventral, entre a mandíbula inferior e a zona genital, é esbranquiçada. Já nos adultos, a coloração torna-se mais clara e com cicatrizes brancas bem salientes. Os adultos alcançam uma média de três

metros de comprimento e chegam a pesar 500 quilogramas (ICNF, 2019a; KISZKA; BRAULIK, 2018).

Os golfinhos-de-Risso alimentam-se principalmente de cefalópodes mesopelágicos e bênticos, incluindo lulas, chocos e polvos (UFRGS, 2019; OBSERVATÓRIO MARINHO DE ESPOSENDE – OMARE, 2019). A espécie está amplamente distribuída em águas tropicais e temperadas nos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico. Todavia, estudos ressaltam que esses animais são relativamente raros ao longo da costa atlântica da América do Sul (JEFFERSON *et al.*, 2014; THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY, 2019c). A estimativa de distribuição da espécie é de cerca de 350.000 indivíduos, o que é considerado pela IUCN como categoria de risco menos preocupante (Tabela 1) (KISZKA; BRAULIK, 2018).

1.4.3 Baleia-minke (Balaenoptera acutorostrata Lacépède, 1804)

A baleia-minke (ou baleia-anã) é um cetáceo da família Balaenopteridae. Essa espécie é considerada a menor e mais abundante das baleias. Os animais apresentam cabeça triangular e pontuda, o rostro achatado e pregas gulares (~50 a 70) que se estendem até as nadadeiras peitorais. Estas são estreitas e curtas e apresentam uma larga mancha branca. A nadadeira caudal possui delicada reentrância mediana e borda levemente côncava. Além disso, as baleias apresentam coloração cinza-escura na região dorsal e branca-acinzentada na parte ventral. Os adultos alcançam uma média de 10 metros de comprimento e chegam a pesar 10 toneladas (ICNF, 2019a; MIRANDA *et al.*, 2019).

A dieta desses animais inclui, predominantemente, peixes, mas também se alimentam de crustáceos e cefalópodes (THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY, 2019b). A baleia-minke é uma espécie cosmopolita encontrada em todos os oceanos e em quase todas as latitudes, de quase 70°S a 80°N. Não há estimativa do tamanho da população global e, embora o declínio tenha ocorrido em algumas regiões no passado devido à superexploração, segundo a IUCN a espécie é considerada como categoria de risco menos preocupante (Tabela 1) (COOKE, 2018).

Tabela 1. Espécies de animais marinhos, nomes populares e categorias de risco segundo a lista vermelha da IUCN (2019).

Animais Marinhos	Espécies	Nomes populares	Categorias de risco
Aves	<i>Spheniscus magellanicus</i>	pinguim-de-Magalhães	NT
	<i>Sterna trudeaui</i>	trinta-réis-de-coroa-branca	LC
Répteis	<i>Chelonia mydas</i>	tartaruga-verde	EN
	<i>Eretmochelys imbricata</i>	tartaruga-de-pente	CR
	<i>Arctocephalus australis</i>	lobo-marinho-sul-americano	LC
Mamíferos	<i>Grampus griseus</i>	golfinho-de-Risso	LC
	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	baleia-minke	LC

CR: “Critically Endangered” – alto risco de extinção

EN: “Endangered” – em perigo de extinção

VU: “Vulnerable” – vulnerável

NT: “Near Threatened” – quase ameaçado

LC: “Least Concern” – menos preocupante

Fonte: Elaborado pela autora a partir de dados da IUCN (2019).

No contexto atual, segundo a lista vermelha da IUCN, a maioria dos animais marinhos enfrenta sérias ameaças e encontra-se em declínio populacional, tais como as espécies que foram salientadas neste trabalho (Tabela 1). Além disso, os dados que avaliam a extensão das ameaças às

diversas espécies marinhas são insuficientes. Outrossim, os vertebrados marinhos apresentam características biológicas que os tornam mais vulneráveis que outros grupos taxonômicos, visto que são espécies com maturação sexual tardia, baixas taxas reprodutivas, crescimento lento e potencial bioacumulador (ROCHA-CAMPOS; CÂMARA, 2011).

Fenômenos climáticos naturais, como, por exemplo, *El Niño* e *La Niña*, acarretam mudanças na circulação de correntes marinhas e ventos e, conseqüentemente, influenciam em fatores demográficos (número de nascimentos) e na disponibilidade de recursos alimentares. Por conseguinte, esses fatores podem comprometer o complexo ciclo de vida dos animais marinhos (GUINET; JOUVENTIN; GEORGES, 1994; MÄDER; SANDER; CASA JR., 2010; ROCHA-CAMPOS; CÂMARA, 2011; ICMBio, 2019).

Contudo, a interferência humana em escala global constitui a principal ameaça para a diversidade biológica marinha, ressaltando-se a intensa atividade de comércio, transporte e exploração de petróleo em zonas costeiras. Além disso, essas áreas incluem regiões metropolitanas (por exemplo, faixa de 200 quilômetros do litoral brasileiro concentra cerca de 58% da população total do Brasil), onde vivem milhões de pessoas (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2019). Esses fatores corroboram o desenvolvimento desordenado, o tráfego e os acidentes de embarcações marinhas, causando, conseqüentemente, o declínio de recursos naturais nos biomas marinhos e gerando um aumento na exposição dos animais a diversos poluentes (FLEMING *et al.*, 2006; MORTIMER; DONNELLY, 2008; RUOPPOLO *et al.*, 2012; COOKE, 2018; KISZKA; BRAULIK, 2018; BRASIL, 2017; ROPERT-COUDERT *et al.*, 2019). O ambiente marinho também pode servir como via de

disseminação de poluentes químicos (óleos e compostos organopersistentes) e microbiológicos (vírus, protozoários e bactérias), carreadores de traços adquiridos em outros ambientes seletivos e com potencial de patogenicidade para seres humanos e outros animais (YORIO; BOERSMA, 1992; GARCÍA-BORBOROGLU *et al.*, 2006; BOERSMA, 2008; OLIVEIRA; PINHATA, 2008; MICHELS-SOUZA *et al.*, 2010; STEWART *et al.* 2014; SANTESTEVAN *et al.*; 2015; PRICHULA *et al.*, 2016b).

No contexto atual, os dados referentes à ocorrência, à biologia e à ecologia de espécimes da fauna costeira e marinha são oriundos de centros que atuam realizando monitoramento, resgate e reabilitação nas regiões costeiras. Entre os principais centros de informações e cuidados com animais marinhos no RS destacam-se os seguintes: o Centro de Recuperação de Animais Marinhos (CRAM, Museu Oceanográfico da Fundação Universidade Federal do Rio Grande – FURG) e o Centro de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos (CERAM), vinculado ao Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos (CECLIMAR), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS (CECLIMAR, 2019; CENTRO DE RECUPERAÇÃO DE ANIMAIS MARINHOS – CRAM, c2019).

Entretanto, informações sobre os aspectos clínicos, laboratoriais, de dieta e rotas migratórias, por exemplo, têm sido perdidas devido à falta de metodologias adequadas e de coletas sistemáticas de caráter científico. Há poucos estudos relacionados a subáreas como hematologia, bioquímica clínica, microbiologia e toxicologia com animais marinhos (DANTAS *et al.*, 2013). Essas informações são necessárias para o conhecimento do estado geral desses animais e para decisões sobre manutenção, reabilitação ou soltura. Além disso,

essas análises podem gerar informações importantes sobre impactos sofridos por essas espécies em longo prazo, uma vez que elas são excelentes indicadoras da qualidade ambiental dos oceanos (BOERSMA, 2008; MÄDER; SANDER; CASA JR., 2010; SILVA, 2013; HICKCOX *et al.*, 2019).

1.5 Microbiota intestinal

A microbiota intestinal é definida como a população total de espécies microbianas que compõem o trato gastrointestinal (TGI) (MARCHESI; RAVEL, 2015). A comunidade microbiana do TGI pode variar, dependendo da idade, da dieta e do estado de saúde do hospedeiro (YEOMAN *et al.*, 2011; SCOTT *et al.*, 2013; KOSTIC; HOWITT; GARRETT, 2013; NELSON; ROGERS; BROWN, 2013; ZHERNAKOVA *et al.*, 2016; GRUBER; KENNEDY, 2017).

Nas aves e nos répteis, os filhotes recém-nascidos adquirem parte de sua microbiota a partir da superfície do ovo, circundante no meio ambiente (ninho) e em sua primeira refeição. O modo de alimentação de algumas aves – por exemplo, por regurgitação – também pode aumentar a probabilidade de transmissão vertical bacteriana dos pais para o trato intestinal dos filhotes. Em contrapartida, no caso dos mamíferos, os micro-organismos são adquiridos, inicialmente, pelo leite materno e, à medida que ocorre o desenvolvimento do animal, a microbiota intestinal torna-se cada vez mais diversificada, devido à mudança na dieta do leite para os alimentos sólidos (LEY *et al.*, 2008; KOSTIC; HOWITT; GARRETT, 2013; JIMÉNEZ *et al.*, 2013).

Os animais marinhos, quando adultos, podem adquirir parte de suas comunidades bacterianas também a partir da água do mar, que pode funcionar

tanto como um meio para o transporte quanto para o crescimento de micro-organismos (FONSECA; PETRY, JOST, 2001; ISLAM; TANAKA, 2004; DEWAR, 2012). Dessa forma, por meio de sucessão ecológica, o TGI é formado por uma comunidade microbiana densa e complexa.

Estudos têm salientado a influência da microbiota nos processos de obtenção de energia, metabolismo de gorduras, secreção e síntese de nutrientes, vitaminas e aminoácidos do hospedeiro. Dessa forma, os micro-organismos são fundamentais para a saúde do hospedeiro, atuando nos processos nutricionais, fisiológicos, imunológicos e metabólicos (DEWAR, 2012; HAND *et al.*, 2013). A microbiota nativa suprime a colonização de bactérias invasoras, fornecendo proteção para o hospedeiro contra espécies patogênicas (SOLER *et al.*, 2010; DEWAR, 2012). Bactérias patogênicas geram gastos energéticos dispendiosos para o sistema imunitário e, conseqüentemente, isso pode atrasar o crescimento/desenvolvimento do hospedeiro (STECHER; HARDT, 2008; BOGOMOLNI *et al.*, 2008; CAMPOS *et al.*, 2013). Sob essa perspectiva, alguns agentes biológicos isolados a partir de animais marinhos selvagens poderiam ser utilizados como indicadores da saúde animal e de perturbações do ecossistema marinho.

1.6 O gênero *Enterococcus* spp.

1.6.1 Taxonomia

Os enterococos são bactérias Gram-positivas com baixo conteúdo GC (varia de 37% a 45%) que compõem o Filo Firmicutes (TEIXEIRA *et al.*, 2011).

O gênero pertence à família das *Enterococcaceae*, que compreende também outros gêneros bacterianos, tais como *Melissococcus*, *Bavariicoccus*, *Pilibacter*, *Catellibacter*, *Tetragenococcus* e *Vagococcus* (LEBRETON; WILLEMS; GILMORE, 2014; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019).

Em 1899, Thiercelin descreveu um micro-organismo diplococo Gram-positivo saprofítico de origem entérica causador de infecção, o qual denominou “entérocoque” (THIERCELIN; JOUHAUD, 1899; THIERCELIN, 1899). Ainda naquele ano, um estudo detalhado sobre um caso de endocardite aguda causada por um micro-organismo chamado de “*Micrococcus zymogenes*” (posteriormente, reconhecido como um *Enterococcus faecalis*) foi publicado por MacCallum e Hastings (1899). Inicialmente, os enterococos foram classificados como pertencentes ao gênero *Streptococcus* e eram diferenciados dos outros componentes desse grupo por suas características fisiológicas e sorológicas. Mas, com o passar do tempo, foram sendo realizadas importantes mudanças em sua taxonomia.

Em 1906, o nome *Streptococcus faecalis* foi usado por Andrewes e Horder para caracterizar um micro-organismo de origem fecal. Os autores escolheram o nome “faecalis” para enfatizar que esse estreptococo era característico do intestino humano, embora o organismo tenha sido isolado de um paciente com endocardite (ANDREWES; HORDER, 1906). Em 1937, com o intuito de melhorar o esquema de classificação dos estreptococos, Sherman dividiu o grupo em quatro subgrupos: estreptococos de laticínios, viridans, piogênicos e fecais – *Enterococcus* (SHERMAN, 1937).

Em 1970, com base no arranjo celular e em características fenotípicas das espécies pertencentes ao grupo estreptococos fecais, Kalina (1970) propôs

a criação de um táxon *Enterococcus*. Contudo, o gênero *Enterococcus* foi estabelecido somente em 1984, por Schleifer e Kilpper-Balz, que demonstraram, por meio de estudos moleculares, que esse grupo era suficientemente diferente dos outros *Streptococcus*. Dessa forma, as bactérias anteriormente consideradas como *Streptococcus* do Grupo D foram revisadas (MURRAY, 1990). Em 2002, uma extensa revisão da literatura já relatava a existência de 23 espécies distintas de *Enterococcus* (FACKLAM; CARVALHO; TEIXEIRA, 2002).

Atualmente, mais de 50 espécies de enterococos já foram descritas (EUZÉBY, 2019). Algumas abordagens moleculares, associadas a ensaios fenotípicos, contribuíram muito para a identificação/confirmação de espécies de enterococos nos últimos anos. Entre elas, cabe salientar o DNA polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD – *Random Amplified Polymorphic DNA*), o sequenciamento de genes codificadores da subunidade alfa da RNA polimerase (*rpoA* – *RNA polymerase, alpha subunit*), da fenilalanil-tRNA sintase (*pheS* – *phenylalanine tRNA synthase*), o fator de elongação Tu (*tufA*), a análise dos perfis de fragmentação do DNA cromossômico por meio da eletroforese em campo pulsado (PFGE – *Pulsed-Field Gel Electrophoresis*) e a ionização por dessorção a laser assistida por matriz seguida pela detecção em um analisador do tipo de tempo de voo (MALDI-TOF MS – *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry*) (TEIXEIRA; MERQUIOR, 2013; LEBRETON; WILLEMS; GILMORE *et al.*, 2014; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019).

O sequenciamento de múltiplos *loci* (MLST – *Multilocus sequence typing*) se baseia na identificação de sete genes constitutivos (*housekeeping genes*) e tem sido ainda muito usado, principalmente, em estudos de

epidemiologia molecular e elucidação de surtos, substituindo amplamente a análise por PFGE, devido à maior reprodutibilidade e facilidade de implementação (HOMAN *et al.*, 2002; MCBRIDE *et al.*, 2007; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019). Além disso, o sequenciamento do gene 16S rRNA tem contribuído muito na elucidação da maioria das espécies de enterococos. Todavia, essa abordagem não é suficiente para distinguir algumas espécies, como, por exemplo, aquelas que compartilham poucas diferenças nucleotídicas individuais (SNP – *Single-Nucleotide Polymorphism*), tais como: *E. casseliflavus* e *E. gallinarum*, *E. caccae* e *E. haemoperoxidus* (LEBRETON *et al.*, 2017). Sob essa perspectiva, com o advento das tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS – *Next Generation Sequencing*), a partir de 2005, o sequenciamento completo de genomas (WGS – *Whole Genome Sequencing*) passou a ser realizado. A comparação entre sequências de DNA tem sido considerada a melhor metodologia para confirmação de espécies de enterococos, por meio da média de identidade de nucleotídeos (ANI – *Average Nucleotide Identity*), da análise bayesiana da estrutura populacional (BASP – *Bayesian Analysis of Population Structure*) e do cgMLST (*core genome MultiLocus Sequence Typing*), que visa combinar o poder discriminatório do MLST clássico com os extensos dados genéticos derivados do WGS (WILLEMS *et al.*, 2012; RAVEN *et al.*, 2016a; LEBRETON *et al.*, 2017; LYTSY *et al.*, 2017; NEUMANN *et al.*, 2019).

1.6.2 Biologia

Os *Enterococcus* spp. são cocos Gram-positivos, arrançados em cadeias curtas, aos pares ou, ainda, como células únicas. Esses micro-organismos são anaeróbios facultativos, catalase negativos, capazes de crescer em meio de cultura contendo alta concentração de cloreto de sódio (6,5%) e sais biliares (40%). Essas bactérias toleram também grandes variações de pH (4,5 - 10,0) e temperatura (10 - 45 °C), sobrevivem à dessecação e são adaptadas às mais adversas condições ambientais (TEIXEIRA *et al.*, 2011; BYAPPANAHALLI *et al.*, 2012; LEBRETON; WILLEMS; GILMORE, 2014; GACA; LEMOS, 2019).

Os enterococos apresentam crescimento rápido em meios de cultura enriquecidos, produzindo colônias brancas ou amareladas, dependendo da espécie, após 18-24 horas de incubação. Com base em suas capacidades metabólicas, diferentes meios de cultura seletivos são utilizados para o isolamento de enterococos, tais como meios contendo sais biliares, azida de sódio, antibióticos e bile esculina. Nem todas as espécies enterocócicas são capazes de crescer nesses meios seletivos, mas aquelas mais clinicamente relevantes crescem bem (GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019). *E. columbae* e *E. saccharolyticus*, duas espécies filogeneticamente distantes, parecem ter perdido a resistência à azida de sódio, aumentando a possibilidade de que novas espécies de enterococos possam ser perdidas ao usar o ágar bile-esculina-azida para isolamento (LEBRETON *et al.*, 2017). As colônias são não hemolíticas, apresentando raramente casos de alfa ou beta-hemólise. Ensaio fenotípicos específicos auxiliam na identificação das espécies de enterococos. Alguns exemplos são os seguintes: reações de fermentação de carboidratos sem

produção de gás (L-arabinose, manitol, metil- α -D-glicopiranosídeo (MGP), D-rafinose, sacarose, D-sorbitol e D-sorbose), hidrólise da arginina, da leucina- β -naftilamina, da L-pirrolidonil- β -naftilamida, motilidade e produção de pigmento. A maioria das espécies de enterococos produz ácido teicoico glicerol associado à parede celular, que é identificado como antígeno do grupo D, mas alguns também reagem com o grupo Q (MURRAY, 1990; MANERO; BLANCH, 1999; TEIXEIRA *et al.*, 2011, RAMSEY; HARTKE; HUYNCKE, 2014; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019). Essas propriedades permitem distinguir *Enterococcus* spp. de outros cocos Gram-positivos catalase negativos gênero-espécie relacionados.

1.6.3 Ecologia

Os *Enterococcus* spp. são micro-organismos bastante antigos que parecem ter proliferado quando os animais passaram a rastejar em terra há centenas de milhões de anos (~450) e diversificaram-se junto aos seus hospedeiros terrestres (LEBRETON *et al.*, 2017). O gênero *Enterococcus* inclui, atualmente, 58 espécies encontradas em diversos nichos ecológicos (EUZÉBY, 2018). *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* são as espécies mais estudadas por serem frequentemente portadoras de fatores de virulência. As espécies *E. casseliflavus*, *E. gilvus*, *E. mundtii*, *E. pallens* e *E. sulfureus* apresentam colônias pigmentadas. Há espécies como *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* e *E. massiliensis*, que apresentam motilidade, e espécies capazes de hidrolisar a L-pirrolidonil- β -naftilamida (PYR), como *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. pallens*, *E. saccharolyticus*, *E. canintestini*, *E. termitis*, *E. viikiensis* e *E. devriesei*

(variando entre as linhagens) (TEIXEIRA *et al.*, 2011; GACA; LEMOS, 2019). Características peculiares de cada espécie, como as que foram salientadas, têm contribuído para a adaptabilidade e a ampla distribuição desse gênero na natureza.

Como reflexo da adaptação para a vida terrestre ao longo de milhões de anos de coevolução, as espécies de enterococos passaram a adquirir nutrientes necessários para o seu crescimento e sua sobrevivência em seus habitats como uma vantagem seletiva, tanto por meio da dieta do hospedeiro quanto por relações de alimentação cruzada com outros micro-organismos. Isso permitiu que os enterococos não necessitassem carrear material genético adicional necessário para a biossíntese de muitos precursores mais simples (LEBRETON; WILLEMS; GILMORE, 2014; LEBRETON *et al.*, 2017). Por conseguinte, estudos têm demonstrado que os *Enterococcus* podem ser encontrados na água, no solo, em plantas, em diversos alimentos e, principalmente, no trato gastrointestinal de humanos e outros animais (FISHER; PHILLIPS, 2009; BYAPPANAHALLI *et al.*, 2012; LEBRETON; WILLEMS; GILMORE, 2014; FIORE; VAN TYNE, GILMORE, 2019).

Os primeiros estudos envolvendo *Enterococcus* acreditavam que os “cocos Gram-positivos de origem entérica” poderiam estar relacionados a infecções humanas e que seu principal nicho eram as fezes (THIERCELIN; JOUHAUD, 1899; ANDREWES; HORDER, 1906). Todavia, estudos posteriores demonstraram que os enterococos, em menor ou maior número, dependendo da espécie, constituem a microbiota comensal do trato gastrintestinal, da cavidade oral e do trato geniturinário de humanos e outros animais.

Ostrolenk e Hunder (1946) verificaram que o TGI de gatos, camundongos, porcos-da-índia, coelhos, cães, ratos, morcegos, galinhas, macacos e moscas podem também representar um ótimo reservatório de enterococos. Mundt (1963a) recuperou enterococos de fezes de aves, répteis e mamíferos de ambientes selvagens. Posteriormente, Martin e Mundt (1972) encontraram enterococos em várias espécies de insetos.

Devriese *et al.* (1987) verificaram que *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae* e *E. durans* eram as espécies mais prevalentes no trato intestinal de bovinos, suínos, equinos, ovinos, caprinos, cães, coelhos e aves domésticas. Em 1991, Devriese *et al.*, (1991) avaliaram a distribuição de enterococos na microbiota intestinal de frangos durante vários estágios de desenvolvimento e verificaram a ocorrência de sucessão ecológica de espécies de enterococos de acordo com a idade das aves.

Há vários estudos envolvendo animais domésticos e de interesse econômico, como aves, suínos e gado de corte, com o intuito de verificar se a adição de antimicrobianos, como forma de promover o crescimento e prevenir e tratar doenças nesses animais, poderia estar selecionando linhagens de enterococos resistentes que apresentava risco à saúde humana (AARESTRUP *et al.*, 2000; RUZAUSKAS *et al.*, 2009; CASSENEGO *et al.*, 2011; GARCIA-MIGURA *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2014). No ano de 1993, foi relatado o primeiro caso de enterococos resistente à vancomicina isolado de fonte não humana, um *E. faecium*, isolado de animais de fazenda no Reino Unido (BATES; JORDENS; SELKON, 1993).

Nas últimas décadas, pesquisas envolvendo animais marinhos passaram a ganhar destaque, por este ser um grupo pouco estudado e pelo alto

potencial de apresentar novas espécies (SVEC *et al.*, 2005). A ocorrência de enterococos em espécies marinhas selvagens foi relatada pela primeira vez em leões-marinhos (*Zalophus californianus*), focas (*Phoca vitulina*) e elefantes-marinhos (*Mirounga angustirostris*) ao longo da costa da Califórnia (JOHNSON; NOLAN; GULLAND, 1998; THORNTON; NOLAN; GULLAND, 1998).

Enterococos foram também recuperados de fezes de foca coletadas da superfície do gelo marinho na Estação McMurdo, Antártica (LISLE *et al.*, 2004). Lockwood, Chovan e Gaydos (2006) isolaram *Enterococcus* spp. de feridas, umbigo, orelhas, conjuntiva e narinas de filhotes e desmamados de focas (*Phoca vitulina*) localizados nas regiões norte de Puget Sound e San Juan Islands, em Washington. Layton *et al.* (2010) rastrearam enterococos nas fezes de gaivotas, focas e leões-marinhos da região da Baía de São Francisco (Califórnia, EUA).

Barros *et al.* (2011) isolaram *E. faecium* e *E. faecalis* de amostras fecais de dourada (*Sparus aurata*) na costa oeste de Portugal. Marinho *et al.* (2013) recuperaram *E. faecium*, *E. hirae*, *E. faecalis* e *E. gallinarum* de amostras fecais de cinco espécies de equinodermos no arquipélago dos Açores. Spence *et al.* (2014) sequenciaram o genoma de *E. faecalis* (PF3) isolado de amostras fecais de pinguins-de-Adélia (*Pygoscelis adeliae*), coletadas na Ilha Warriner, Antártica. Rahman *et al.* (2015) verificaram também que enterococos fazem parte da comunidade microbiana intestinal de pinguins-de-Adélia que habitam a região de Lutzow-Holm Bay, na Antártida.

Santestevan *et al.* (2015) observaram a presença de seis diferentes espécies de enterococos (*E. faecalis*, *E. hirae*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. mundtii* e *E. faecium*) em amostras fecais de espécies de lobos marinhos sul-

americanos (*Arctocephalus australis*) e de lobos subantárticos (*Arctocephalus tropicalis*). Prichula *et al.* (2016a) sequenciaram o genoma completo de um *E. faecalis* (P8-1) obtido de suabes fecais de pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) recuperados no Litoral Norte do sul do Brasil. O mesmo grupo de pesquisa verificou, em outro estudo, a presença de *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. mundtii* e *E. casseliflavus* em amostras fecais de tartarugas (*Chelonia mydas* e *Eretmochelys imbricata*), aves (*Spheniscus magellanicus*, *Sterna trudeaui* e *Himantopus melanurus*) e mamíferos marinhos (*Balaenoptera acutorostrata*, *Megaptera novaeangliae* e *Grampus griseus*) (PRICHULA *et al.*, 2016b).

Posteriormente, Guass *et al.* (2016) relataram a presença de *E. faecalis* em material fecal de uma baleia-azul (*Balaenoptera musculus*). Mais recentemente, a diversidade de enterococos foi estimada em amostras de fezes de animais marinhos selvagens por PCR em tempo real (MEDEIROS *et al.*, 2017). O estudo verificou que *E. faecalis* e *E. mundtii* foram os mais abundantes em mamíferos marinhos (*Arctocephalus australis* e *Arctocephalus tropicalis*). *Enterococcus faecalis* foi frequente em tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*), pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*), andorinha-do-mar (*Sterna trudeaui*), maçarico-de-papo-vermelho (*Calidris canutus*) e albatroz-de-sobrancelha-negra (*Thalassarche melanophris*). *Enterococcus hirae* e *Enterococcus gallinarum* apresentaram ocorrência elevada em pernilongo-de-costas-brancas (*Himantopus melanurus*) e *Enterococcus faecium*, em pardelão-de-queixo-branco (*Procellaria aequinoctialis*) (MEDEIROS *et al.*, 2017). Dessa forma, a ocorrência e a frequência de algumas espécies de enterococos podem estar diretamente relacionadas à dieta, à idade e à espécie do

animal/hospedeiro, bem como a suas variações sazonais e localização geográfica (LEBRETON; WILLEMS; GILMORE, 2014).

Apesar de os enterococos serem mais comumente encontrados no TGI, seu potencial intrínseco permite que persistam e se disseminem também no solo, na água e nas plantas (MUNDT, 1961, 1963b; SVEC; SEDLACEK, 1999; BADGLEY; NAYAK; HARWOOD, 2010; NACHTIGALL *et al.*, 2013; AHMAD *et al.*, 2014). A ocorrência de enterococos nesses ambientes pode decorrer de contaminação fecal, de necessidades nutricionais ou de adaptações a esses diversos habitats (MARACCINI; FERGUSON; BOEHM, 2012; DADA *et al.*, 2013; LEBRETON; WILLEMS; GILMORE, 2014). Habitats extraentéricos apresentam temperaturas variáveis (heterotérmicos), em contraste com o TGI de animais de sangue quente, nos quais a temperatura é relativamente constante. Além disso, a radiação UV, a salinidade, a escassez de nutrientes e a predação são alguns dos estressores ambientais que podem impactar negativamente na sobrevivência dos micro-organismos nesses ambientes (BYAPPANAHALLI *et al.*, 2012; LEBRETON; WILLEMS; GILMORE, 2014). Dessa forma, as funções ecológicas de enterococos em habitats extraintestinais podem estar relacionadas com a decomposição da matéria orgânica, com a proteção de plantas de agentes patogênicos ou contribuindo para a estabilidade da comunidade microbiana (BYAPPANAHALLI *et al.*, 2012).

Os enterococos são também conhecidos como bactérias ácido-láticas (LAB – *Lactic Acid Bacteria*), por serem anaeróbios facultativos, quimio-organotróficos e com metabolismo homofermentativo que resulta na produção de L-(+)-ácido-lático como produto final predominante da fermentação da glicose (TEIXEIRA *et al.*, 2011). Dessa forma, representam uma importante ferramenta

na tecnologia de produção de alimentos fermentados, uma vez que contribuem para o amadurecimento e o desenvolvimento de sabor de muitos queijos, iogurtes e manteiga, por exemplo (GIRAFFA, 2002; FRANZ *et al.*, 2003; PRICHULA *et al.*, 2013). Na indústria alimentícia, também são utilizados como culturas *starter*, probióticos e inibidores de espécies patogênicas, tais como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, devido à produção de bacteriocinas (GOMES; FRANCO; MARTINIS, 2010; MORAIS *et al.*, 2012; NES; DIEP; IKE, 2014; SETTANNI; CORSETTI, 2008).

A partir da década de 1970, os enterococos emergiram como patógenos associados a Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde – IRAS (MURRAY, 1990; MUNDY *et al.*, 2000; KOCH *et al.*, 2004; BENDER *et al.*, 2009; CDC, 2019). Devido à natureza oportunista dessas bactérias, estudos epidemiológicos salientam que os enterococos estão relacionados a infecções como endocardite, infecção pélvica, intra-abdominal e urinária, meningite e septicemia (JOHANSSON; RASMUSSEN, 2013; HIGUITA; HUYCKE, 2014; CDC, 2019).

Enterococcus faecalis é a espécie mais comumente associada a infecções em humanos, representando mais de 90% dos isolados clínicos. A segunda espécie é *E. faecium*, correspondendo a cerca de 5% dos enterococos isolados. *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. pallens*, entre outras, também já foram relatadas em amostras clínicas (MURRAY, 1990; HIGASHIDE *et al.*, 2005; DE PERIO *et al.*, 2006; D'AZEVEDO *et al.*, 2006; LEVESQUE *et al.*, 2016; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019). *E. durans*, *E. hirae* e *E. mundtii*, apesar de terem sido já relatadas em casos clínicos e serem filogeneticamente relacionadas à espécie *E. faecium*, não

apresentam arsenais de virulência comumente encontrados em *E. faecium* (LEBRETON *et al.* 2017; BEUCKERS *et al.*, 2017; BONACINA *et al.*, 2017). *E. pallens* foi associado à peritonite espontânea em pacientes com cirrose hepática e foi isolado do líquido da ascite, até o momento limitado a quatro casos relatados na província de Quebec, Canadá (LEVESQUE *et al.*, 2016). A importância desse organismo como patógeno humano ainda não foi determinada. É importante salientar que as espécies *E. casselaflavus* e *E. gallinarum*, devido à presença do gene *vanC*, são conhecidas por apresentar resistência intrínseca à vancomicina, antimicrobiano utilizado como uma das últimas opções terapêuticas em casos de infecções causadas por enterococos e outros cocos Gram-positivos (TEIXEIRA; MERQUIOR, 2013; LEBRETON; WILLEMS; GILMORE, 2014).

De acordo com o relatório recente do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 2019), mais de 2,8 milhões de infecções resistentes a antibióticos ocorrem nos EUA a cada ano, com mais de 35.000 óbitos. O relatório ainda evidencia 54.500 casos de enterococos resistentes à vancomicina (VRE) em pacientes hospitalizados e aponta que pelo menos 5.400 pessoas morreram por essas infecções em 2017.

Entre os pacientes com alto risco de infecções por VRE estão incluídos aqueles que recebem cuidados de saúde complexos ou prolongados (como pacientes em hospitais de terapia intensiva ou UTIs) ou que estão com o sistema imunitário enfraquecido (por exemplo, em tratamento de câncer ou transplantados). Cerca de 30% de todas as infecções enterocócicas associadas à assistência médica são resistentes à vancomicina, o que reduz as opções de tratamento. Mais de 70% dos *E. faecium* são resistentes à vancomicina, o que

torna os profissionais de saúde dependentes de outros antibióticos. Os enterococos estão entre as três bactérias mais resistentes a antimicrobianos, e os VRE foram incluídos como de prioridade alta na lista de “agentes patogênicos prioritários” resistentes aos antibióticos publicada pela OMS em 2017 (WILLYARD, 2017). Essa lista foi divulgada com o objetivo de orientar e promover a pesquisa e o desenvolvimento de novos fármacos visando combater a crescente resistência global aos medicamentos antimicrobianos. Em vista disso, tem-se considerado os *Enterococcus* como um dos principais gêneros microbianos com elevado impacto clínico (MAGIORAKOS *et al.*, 2012; WILLYARD, 2017; CDC, 2019).

1.6.4 Genoma

Por mais de um século, o estudo dos enterococos foi direcionado por técnicas de cultivo, com a necessidade de obtenção de culturas puras e de ensaios fenotípicos específicos associados ao estudo de poucos genes. Com a evolução das técnicas de sequenciamento e de ferramentas computacionais, os estudos genômicos aumentaram significativamente e têm contribuído para o melhor entendimento sobre diversidade, biologia, virulência e evolução dos enterococos (PALMER *et al.*, 2014; LEBRETON *et al.*, 2017; GACA; LEMOS, 2019).

Estudo recente demonstrou que a origem dos enterococos teria ocorrido concomitantemente à terrestrialização animal, há cerca de 450 milhões de anos. Enterococos comensais teriam surgido de ancestrais adaptados a ambientes e hospedeiros marinhos – os *Vagococcus*. A aquisição de cerca de

126 genes teria resultado em espessamento da parede celular e na habilidade de suportar condições de estresse ambiental. Por conseguinte, esses novos genes teriam possibilitado a sobrevivência dos enterococos, permitindo a resistência à dessecação, à desnutrição e, atualmente, à desinfecção hospitalar. Os autores salientaram, ainda, que a especiação enterocócica parece ter acontecido paralelamente à diversificação dos hospedeiros terrestres, a partir da utilização de novas fontes de carboidratos (LEBRETON *et al.*, 2017).

Os representantes do gênero *Enterococcus* apresentam genomas de 2,3 Mb (espécie *E. sulfureus*) até 5,4 Mb (espécie *E. pallens*), com cerca de 2.154 a 5.107 genes previstos (PALMER *et al.*, 2012; LEBRETON *et al.*, 2017; ZHONG *et al.*, 2017). As diferenças encontradas no tamanho do genoma de enterococos podem indicar que a evolução dessas bactérias esteve associada a diferentes níveis de transferência horizontal de genes (HGT – *Horizontal Gene Transfer*), por meio da aquisição e da perda gênica (ZHONG *et al.*, 2017).

Com o intuito de entender mais sobre a diversidade genômica interespecies, alguns estudos estimaram o pangenoma (o total de genes esperados para o gênero), os genes incluídos no genoma central ou *core genome* (que compreende genes presentes em todas as espécies) e os pertencentes ao genoma acessório ou auxiliar (genes únicos) (ZHONG *et al.*, 2017). Zhong *et al.* (2017) verificaram que o pangenoma de 37 *Enterococcus* spp., representantes de 34 diferentes espécies, continha 29.545 famílias gênicas e que o tamanho do pangenoma crescia continuamente à medida que genomas eram adicionados à análise. O *core genome* do gênero *Enterococcus* está estimado entre 605 e 1.037 genes, dependendo do conjunto de dados e critérios utilizados para análise (PALMER *et al.*, 2012; ZHONG *et al.*, 2017; LEBRETON

et al., 2017). Por conseguinte, o pangenoma dos enterococos é considerado aberto, o que reflete a natureza altamente ubíqua dessas bactérias adaptadas a diversos nichos ambientais (LEBRETON; WILLEMS; GILMORE, 2014; ZHONG *et al.*, 2017). Segundo análises evolutivas dos genomas procarióticos, alterações no *core genome* estão frequentemente associadas com transmissão vertical e recombinação homóloga, enquanto mudanças no genoma acessório são associadas à HGT e a recombinações específicas envolvendo elementos genéticos móveis (GONZÁLEZ-TORRES *et al.*, 2019).

Nas últimas duas décadas, uma grande quantidade de informações foi publicada sobre *E. faecalis* e *E. faecium*. Em 2003, foi publicado o primeiro genoma completo de enterococos (*E. faecalis* V583), uma das primeiras linhagens resistentes à vancomicina nos Estados Unidos (PAULSEN, *et al.*, 2003). Em 2008, o segundo genoma completo foi publicado (*E. faecalis* OG1RF), gerado em laboratório, resistente à rifampicina e ao ácido fusídico, derivado de um isolado oral humano não resistente a antibióticos (OG1) de 1975 (GOLD; JORDAN; VAN HOUTE, 1975; BOURGOGNE *et al.*, 2008). Posteriormente, diversos genomas de *E. faecalis* de importância clínica e ambiental foram sequenciados e estudados (PALMER *et al.*, 2012; RAVEN *et al.*, 2016b, HE *et al.*, 2018).

Em contrapartida, os primeiros genomas completos de *E. faecium* foram obtidos somente em 2012. A linhagem *E. faecium* Aus0004 resistente à vancomicina foi isolada da corrente sanguínea de um paciente em Melbourne, na Austrália, em 1998 (LAM *et al.*, 2012), enquanto a linhagem *E. faecium* TX16 (TX0016 ou DO) foi isolada do sangue de um paciente com endocardite, em 1992, nos Estados Unidos (QIN *et al.*, 2012). Em 2013, uma coleção global de

73 *E. faecium* oriundos de várias fontes demonstrou que os *E. faecium* apresentam uma associação significativa com base em sua origem, mostrando uma separação entre isolados clínicos e comensais: clado A1 (associados, principalmente, a isolados clínicos), clado A2 (compreendendo, principalmente, isolados animais e ambientais) e clado B (comensais humanos) (LEBRETON *et al.* 2013). Os *E. faecium* do clado A1 emergiram na clínica a partir de 1980, por isso têm sido alvo da maioria dos estudos baseados em WGS, sendo a maioria resistente à vancomicina (KIM; MARCO, 2014; HOWDEN *et al.* 2013; LEBRETON *et al.* 2013; PINHOLT *et al.* 2015; VAN HAL *et al.*, 2016; RAVEN *et al.*, 2016a; LEONG *et al.*, 2018).

Ainda que tenham sido feitos vários e significativos avanços nessa área, ainda há muito a ser compreendido com os dados genômicos existentes (PALMER *et al.*, 2014). O número de genomas sequenciados de diferentes espécies de enterococos contidos em bases de dados públicos, tais como o GenBank (3763 genomas de enterococos), difere muito. O maior número de genomas encontrados é de *E. faecium* (1827), seguido por *E. faecalis* (1482). Isso se deve, principalmente, à relevância clínica dessas espécies, e pouco se sabe sobre as demais espécies de enterococos (BEUCKERS *et al.* 2017; BONACINA *et al.*, 2017; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019). Além disso, a maioria dos genomas de enterococos estudados é de origem terrestre e poucos são aquáticos. Destes, apenas dez são marinhos (*E. faecalis* TY1, *E. faecalis* OG1X, *E. faecalis* PF3, *E. faecalis* P8-1, *E. faecalis* P9-1, *E. faecium* 11F9-MSG5001, *E. faecium* 11F10_MSG5009, *E. faecium* ICBEf1B, *E. faecium* 11C6-DIV0699 e *E. aquimarinus* API 8407116). Isso demonstra a importância de mais estudos genômicos envolvendo enterococos de diferentes espécies e de diversas fontes

ambientais, para melhor compreender-se o papel desse gênero na natureza, bem como para elucidar a evolução de linhagens de enterococos resistentes e virulentas (PALMER; GILMORE, 2010; GILMORE; LEBRETON; VAN SCHAİK, 2013; PALMER *et al.*, 2014; LEBRETON *et al.*, 2017).

1.6.5 Plasticidade genômica e determinantes associados com virulência

Os estudos genômicos de enterococos relacionados a infecções hospitalares têm demonstrado que algumas linhagens virulentas são caracterizadas pela presença de DNA celular abundante, incluindo numerosos fagos, plasmídeos e *transposons* que codificam vários determinantes de virulência (PAULSEN *et al.*, 2003; PALMER; GILMORE, 2010; LEBRETON *et al.*, 2017). O genoma do isolado clínico *E. faecalis* V583 apresenta cerca de 25% de DNA móvel e/ou DNA exógeno, incluindo sete profagos, vários plasmídeos integrados, três plasmídeos extracromossômicos (pTEF1, pTEF2 e pTEF3), ilhas genômicas e ilhas de patogenicidade (PAI – *Pathogenicity Island* – contendo genes para substâncias de agregação, citolisina e outros possíveis genes de virulência), um *transposon* conjugativo do tipo *vanB* que carrega resistência à vancomicina e outro que codifica vários genes de resistência a antibióticos e 38 elementos de inserção (IS – *Insertion Sequences*), sendo três predominantes ISEf1, IS256, e IS1216 (LEPAGE *et al.*, 2006; MCBRIDE *et al.*, 2007; PAULSEN *et al.*, 2003; PALMER *et al.*, 2014). Em contrapartida, o genoma comensal OG1RF possui pouco conteúdo móvel, não possui plasmídeos e PAI. Além disso, possui apenas um profago que é essencial para as espécies de *E. faecalis* (profago 2), bem como um *transposon* que não possui genes de resistência a

antibióticos (MCBRIDE *et al.*, 2007; BOURGOGNE *et al.*, 2008). Dessa forma, a abundância de DNA adquirido por transferência horizontal em V583, em comparação com OG1RF, resulta em uma grande discrepância de tamanho entre seus genomas, variando de 2,74 Mb (OG1RF) a 3,36 Mb (V583).

O genoma de *E. faecium* Aus0004, de 3,0 Mb, apresenta uma abundância de elementos genéticos móveis e/ou DNA exógeno (sendo 38% de genoma acessório), incluindo 21 diferentes elementos IS (com o predomínio de ISL3 e ISEf1), múltiplos profagos, três plasmídeos (Aus0004p1, Aus0004p2, Aus0004p3), duas grandes ilhas genômicas (carreando alguns genes de virulência, como o gene que codifica a proteína de superfície de enterococos – Esp – *Enterococcal surface protein*) e a localização do *transposon* que codifica a resistência à vancomicina (*vanB*), semelhante ao Tn1549 (LAM *et al.*, 2012). Consequentemente, essas linhagens clínicas tendem a ter tamanhos maiores de genoma quando comparadas com isolados ambientais. Os trabalhos sugerem que isso ocorre devido ao sistema CRISPRs (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) (PALMER; GILMORE, 2010; GILMORE; LEBRETON; VAN SCHAIK, 2013).

Os CRISPRs são conhecidos devido ao seu papel como um “sistema imunitário” procariótico. Dois tipos de CRISPRs são relatados em procariotos: os associados com genes funcionais (CRISPR-Cas) e aqueles sem genes funcionais (órfão-CRISPR) (MARRAFFINI; SONTHEIMER, 2010; KATYAL *et al.*, 2013; PRICE *et al.*, 2019). Em enterococos, três tipos de CRISPRs já foram identificados em amostras ambientais e clínicas, dois com genes funcionais associados (CRISPR1-Cas e CRISPR3-Cas) e um órfão-CRISPR (CRISPR2) (PALMER; GILMORE, 2010; KATYAL *et al.*, 2013; HUESCAS *et al.*, 2019). Os

loci CRISPRs podem apresentar diferentes polimorfismos entre as cepas, dependendo da espécie; a extensão dos CRISPRs contém de 24 a 47 pares de base (pb) (GRISSA; VERGNAUD; POURCEL, 2007).

O mecanismo de ação dos CRISPRs, em geral, é ativado quando um pequeno segmento de DNA penetra em uma célula bacteriana. Esse DNA é incorporado entre as sequências palindrômicas repetidas do sistema CRISPRs, transcrito e processado para gerar um pequeno RNA, denominado crRNA, que se associa a nucleases-CRISPR, codificadas por genes associados aos CRISPRs (genes *cas*). Quando outro fragmento de DNA invade a célula, o crRNA o reconhece, impedindo que bacteriófagos e outros fragmentos de DNA sejam incorporados dentro do genoma da bactéria, atuando como importante “mecanismo de defesa” contra DNAs invasores (PALMER; GILMORE, 2010). Dessa forma, o sistema CRISPRs-Cas seria responsável por impedir as bactérias (portadoras de genes CRISPRs-Cas) de trocar material genético entre si por meio de elementos genéticos móveis, funcionando como uma “imunidade adaptativa” contra a aquisição de material genético exógeno. Consequentemente, essas bactérias portadoras de CRISPRs apresentariam um genoma menor. Estudos demonstram que esses genes são mais encontrados em bactérias ambientais do que em isolados clínicos (MARRAFFINI; SONTHEIMER, 2010; GILMORE; LEBRETON; VAN SCHAIK, 2013).

Portanto, linhagens virulentas de enterococos parecem ter perdido os genes associados com o nicho gastrointestinal de comensais, movendo-se em direção a um nicho de patogenicidade durante o seu processo evolutivo. As linhagens que não possuem os elementos CRISPRs-Cas são capazes de adquirir sequências de inserção e elementos genéticos móveis contendo genes

de resistência aos antibióticos e de virulência, o que resulta em aumento de patogenicidade (PRICE *et al.*, 2019). Há fortes evidências de uma associação entre o acúmulo de sequências de inserção e o aumento da virulência dos enterococos (PALMER; GILMORE, 2010; GILMORE; LEBRETON; VAN SCHAİK, 2013). Investigações sobre distribuição e caracterização dos CRISPRs têm sido centradas em bactérias patogênicas, enquanto pouco se conhece sobre CRISPRs em bactérias comensais. Neste caso, eles podem ter um papel significativo na ecologia da microbiota de seres humanos e outros animais (KATYAL *et al.*, 2013; SPENCE *et al.*, 2014; PRICHULA *et al.*, 2016a; HUESCAS *et al.*, 2019).

Estudos têm salientado que isolados de *E. faecalis* clínicos são comumente enriquecidos por PAIs, que abrigam fatores de virulência e outras características que contribuem para uma melhor adaptação ao hospedeiro (SHANKAR; GILMORE, 2002; PALMER *et al.*, 2014; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019). O *operon* da citolisina (composto de oito genes: *cyiLL*, *cyiLS*, *cyiA*, *cyiB*, *cyiM*, *cyiL*, *cyiR1* e *cyiR2*) e o gene de substância de agregação (*Agg* – *Aggregation substance*) estão normalmente localizados em PAI e, frequentemente, são encontrados em associação (CHOW *et al.*, 1993; PAULSEN, *et al.*, 2003).

A citolisina é uma toxina bacteriana com atividade hemolítica e bactericida contra células procarióticas e eucarióticas (COBURN; GILMORE, 2003; SHANKAR *et al.*, 2004; MEDEIROS *et al.*, 2014). A *Agg* é uma proteína de superfície dos enterococos, conhecida por facilitar a translocação de *E. faecalis* através do epitélio intestinal, mediar a aderência às células epiteliais renais e a componentes da matriz extracelular, bem como aumentar a

sobrevivência em leucócitos polimorfonucleares e macrófagos (SUBMUTH *et al.*, 2000; SHEPARD; GILMORE, 2002b; DUNNY; HANCOCK; SHANKAR, 2014). Outro fator de virulência que aumenta a capacidade de *E. faecalis* de causar doenças é a gelatinase. Essa protease, codificada pelo gene *gelE* (cromossomal), é classificada como enzima metaloendopeptidase extracelular, capaz de hidrolisar substratos como a gelatina, o colágeno, a caseína, a hemoglobina e outros pequenos peptídeos biologicamente ativos (EATON; GASSON, 2001; FISHER; PHILLIPS, 2009). A gelatinase contribui na patogênese enterocócica, uma vez que degrada os tecidos do hospedeiro (para fornecimento de nutrientes peptídicos para o micro-organismo) e também pode auxiliar na formação de biofilme (MARRA *et al.*, 2007; FISHER; PHILLIPS, 2009). A Esp contribui para a adesão celular em *E. faecalis* e *E. faecium*, desempenhando um papel na colonização uretral, endocardites e promovendo a formação de biofilme (GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019).

Plasmídeos, de modo geral, não constituem o *core genome* das espécies. Contudo, são responsáveis por carregar uma ampla gama de genes relacionados à resistência a antimicrobianos e outros fatores que potencializam a plasticidade e a adaptabilidade do genoma. Portanto, alguns plasmídeos são conhecidos em enterococos por carregar genes de relevância clínica que podem ser transferidos por conjugação, tais como os plasmídeos pCF10 e pAD1 (FRANCIA *et al* 2001; HIRT *et al.*, 2005; DUNNY, 2007; CLEWELL, 2007). Os plasmídeos pCF10 são conhecidos por veicular genes de resistência a antibióticos (HIRT *et al.*, 2005; DUNNY, 2007), enquanto os plasmídeos pAD1 carregam citolisina, hemolisinas e resistência à luz ultravioleta (CLEWELL, 2007; GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019). Alguns plasmídeos já foram bem descritos

como responsáveis pela codificação da proteína Agg em *E. faecalis*, tais como pAD1, pCF10, pAM373, pPD1. Os genes relacionados a esses plasmídeos são, respectivamente, *asa1*, *asc10*, *asa373* e *asp1* (CAMARGO *et al.*, 2008; HANCOCK; MURRAY; SILLANPÄÄ, 2014). Estudos demonstram que os enterococos podem, facilmente, adquirir plasmídeos contendo genes que codificam toxinas disseminadas por outras bactérias, tais como a toxina botulínica, que foi encontrada em um *E. faecium* em estudo recente (ZHANG *et al.*, 2018). Profagos têm sido relatados também como fundamentais no aumento da virulência ou da resistência aos antibióticos, podendo converter bactérias comensais em patogênicas (BONACINA *et al.*, 2017; CHATTERJEE *et al.*, 2019).

A resistência a diversos antimicrobianos usados comumente na clínica médica e veterinária é uma característica marcante dos *Enterococcus* spp. Os enterococos são intrinsecamente resistentes a cefalosporinas, sulfonamidas, clindamicina, baixos níveis de β -lactâmicos e de aminoglicosídeos. Todavia, têm apresentado resistência a muitos outros antimicrobianos devido à aquisição de novos genes, tais como os que codificam resistência a cloranfenicol (*cat*), tetraciclinas (*tet*), macrolídeos (*erm*, *efrA* e *efrB*), estreptograminas (*msrC*), níveis elevados de aminoglicosídeos (*aac-2'*-*aph-2''*-*le,aph-3'*IIIa), β -lactâmicos (*pbp4* em *E. faecalis* e *pbp5* em *E. faecium*), glicopeptídeos (*van*) e quinolonas (*gyrA* e *parC*) (SHEPARD; GILMORE, 2002a, TEIXEIRA *et al.*, 2011; KRISTICH; RICE; ARIAS, 2014, GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019; CLSI, 2019). Dessa forma, isolados de enterococos exibindo resistência adquirida a diversos antimicrobianos têm sido descritos com frequência em diferentes hospedeiros e locais (POETA *et al.*, 2005;

D'AZEVEDO; DIAS; TEIXEIRA, 2006; GALES *et al.*, 2009; BENNANI *et al.*, 2012; LEBRETON *et al.*, 2013).

Os antibióticos glicopeptídicos – vancomicina e teicoplanina – são fármacos de primeira linha no tratamento de infecções por bactérias Gram-positivas com resistência a diversos antimicrobianos. Entretanto, nove fenótipos de resistência à vancomicina já têm sido relatados em enterococos (VanA, VanB, VanC, VanD, VanE, VanG, VanL, VanM e VanN), sendo cada tipo associado a diferentes elementos gênicos. Entre os mais importantes, o fenótipo VanA é caracterizado pela resistência a níveis elevados de vancomicina e teicoplanina, e o fenótipo VanB está associado à resistência em níveis variados de vancomicina e suscetibilidade à teicoplanina. Por outro lado, o fenótipo VanC está relacionado à resistência intrínseca (cujo gene está localizado no cromossomo) e é caracterizado pela resistência em níveis baixos à vancomicina e pela suscetibilidade à teicoplanina. Em contrapartida, o fenótipo VanC pode resultar da expressão de quatro determinantes genéticos – *vanC1*, *vanC2*, *vanC3* e *vanC4* –, sendo *vanC1* característico da espécie *E. gallinarum*, enquanto os genótipos *vanC2-C4* foram detectados em *E. casseliflavus* (TEIXEIRA; MERQUIOR, 2013; CATTOIR; LECLERCQ, 2013; KRISTICH; RICE; ARIAS, 2014). Os principais *operons* relacionados a surtos hospitalares causados por enterococos resistentes à vancomicina (VRE) são *vanA* e *vanB*. O *operon vanA* é transportado pelo *transposon* Tn1546, da família Tn3, que pode estar localizado no cromossomo ou em plasmídeos transferíveis. Já o *operon vanB* é mais comumente transportado por Tn1549 (conhecido também como Tn5382), um elemento da família Tn916 que também pode ser incorporado no cromossomo ou plasmídeo (GARCÍA-SOLACHE; RICE, 2019).

Nesse sentido, a resistência à vancomicina representa uma das principais causas de aumento nos custos das internações e nos casos de mortalidade por infecções hospitalares (CATTOIR; LECLERCQ, 2013; KRISTICH; RICE; ARIAS, 2014; CDC, 2019). Os primeiros isolados de VRE surgiram cerca de 15 anos após a introdução da vancomicina na clínica, na Europa e nos Estados Unidos. No Brasil, o primeiro relato de VRE ocorreu em Curitiba, no Estado do Paraná (DALLA-COSTA *et al.*, 1998). Desde então, linhagens de enterococos desse fenótipo têm sido isoladas de diferentes fontes (D'AZEVEDO; DIAS; TEIXEIRA, 2006; NACHTIGALL *et al.*, 2013).

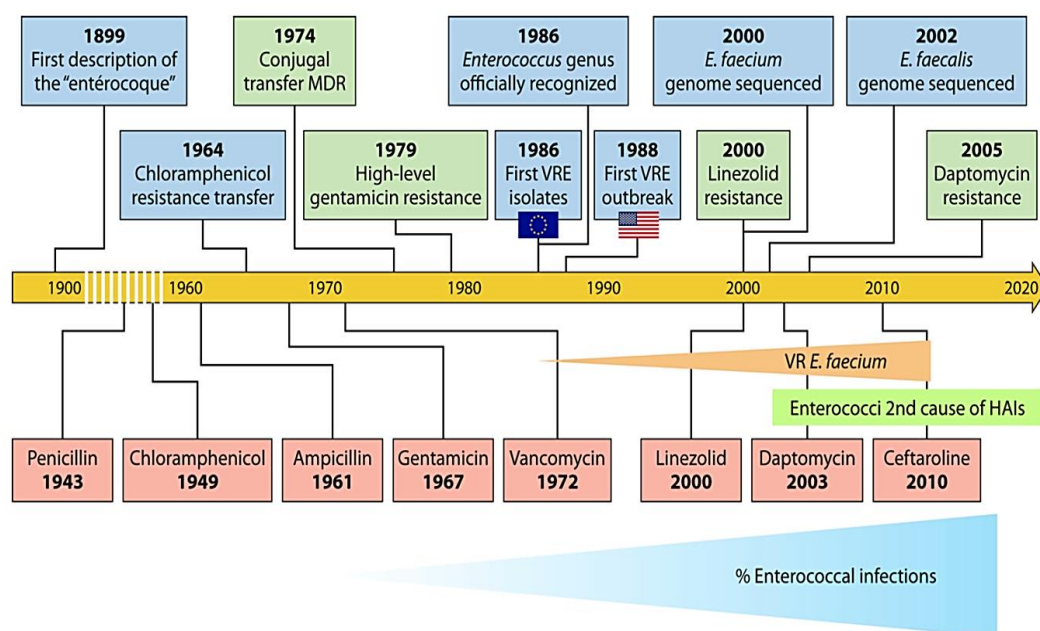


FIGURA 1. Linha do tempo de eventos relevantes na história dos enterococos como patógenos humanos (retângulos azuis), aparecimento de resistência a antibióticos (retângulos verdes) e utilização clínica de antibióticos (retângulos vermelhos).

A linha do tempo começa em 1899, com a primeira descrição formal de enterococos. A linha salta para 1964, para a primeira descrição da transferência de resistência ao cloranfenicol, apenas 15 anos após sua introdução clínica. Histórias semelhantes ocorreram para aminoglicosídeos e glicopeptídeos. Desde o final dos anos 1980, a prevalência de *E. faecium* resistente à vancomicina tem aumentado, assim como a porcentagem geral de IRAS. A resistência aos mais novos antibióticos introduzidos, linezolid e daptomicina, emergiu muito rapidamente após a introdução clínica, mas a maioria dos enterococos ainda permanece suscetível.

Fonte: García-Solache e Rice (2019, p. 5).

1.6.6 Bacteriocinas

O uso desordenado de antibióticos em vários ecossistemas tem sido responsável pela retenção e pela expansão do número e da diversidade de micro-organismos resistentes a antibióticos. O número de mortes causadas por infecções aumentou em todo o mundo, afetou a vida selvagem e tem trazido altos custos à economia global. Nesse contexto, novas estratégias para o tratamento de infecções causadas por micro-organismos multirresistentes têm sido investigadas (OKUDA *et al.*, 2013; DISCHINGER; CHIPALU; BIERBAUM, 2014; YANG *et al.*, 2014). Isso inclui compostos derivados de plantas, bacteriófagos e lisinas de fagos, terapias baseadas em RNA, probióticos e bacteriocinas de diferentes fontes (COTTER; ROSS; HILL, 2013; HASHEMPOUR-BALTORK *et al.*, 2019; FRAZZON; MANN; FRAZZON, 2019).

As bacteriocinas são peptídeos catiônicos produzidos por muitas espécies de bactérias. Esses compostos antimicrobianos são ativos contra outras bactérias, sendo que a bactéria produtora possui um mecanismo de imunidade contra essa substância (COTTER; ROSS; HILL, 2013; KAUR; KAUR, 2015). As bacteriocinas variam em relação ao seu modo de ação, espectro de atividade (restrito ou amplo), massa molecular, propriedades bioquímicas e origem genética (CHEN; HOOVER, 2003; GALVEZ *et al.*, 2008; NES; DIEP; IKE, 2014).

A primeira bacteriocina descoberta foi a colicina, isolada a partir de *Escherichia coli* por André Gratia em 1925 (GRATIA, 1925). Desde então, foram identificadas várias outras bacteriocinas de diversas espécies bacterianas encontradas em ambientes diversos (NES; DIEP; IKE, 2014; KAUR; KAUR,

2015). As bacteriocinas produzidas por espécies de enterococos são comumente chamadas de enterocinas. Essas são, geralmente, ativas contra outros *Enterococcus* spp. e alguns gêneros bacterianos, tais como *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus* e *Listeria* (NES; DIEP; IKE, 2014).

Várias enterocinas de diferentes espécies têm sido caracterizadas a partir de diversas fontes, como alimentos, lixo, fezes e TGI de humanos e outros animais (TODOROV *et al.*, 2005; NES; DIEP; IKE, 2014). A maior parte dessas enterocinas é proveniente de *E. faecium* e *E. faecalis*, mas esses peptídeos também são isolados de *E. mundtii*, *E. avium*, *E. hirae* e *E. durans* (NES; DIEP; IKE, 2014; CAVICCHIOLI *et al.*, 2018).

1.6.6.1 Classificação das enterocinas

Diversas classificações para bacteriocinas já foram propostas (HENG *et al.* 2007; COTTER; ROSS; HILL, 2013) e alguns esquemas específicos de classificação para bactérias ácido-láticas (NES; DIEP; IKE, 2014; PEREZ; ZENDO; SONOMOTO, 2014; ALVAREZ-SIEIRO *et al.*, 2016). Os enterococos, por serem bactérias ácido-láticas, enquadram-se nesses sistemas. Nessa classificação, duas classes maiores de peptídeos antimicrobianos, sintetizados ribossomicamente e termoestáveis, estão bem definidas para enterococos: Classe I (constituem os lantibióticos) e Classe II (peptídeos não modificados e não lantibióticos).

1.6.6.1.1 Classe I: Lantibióticos

Os lantibióticos possuem o aminoácido lantionina (Lan) na sua estrutura. Esse grupo é raramente encontrado em enterococos. Apenas dois lantibióticos foram purificados e caracterizados geneticamente nesse gênero, ambos de *E. faecalis*: a citolisina e a enterocina W (BOOTH *et al.*, 1996; SAWA *et al.*, 2012).

A citolisina (hemolisina) exerce uma atividade antimicrobiana contra um largo espectro de bactérias Gram-positivas, mas também é uma substância antagonista de certas células eucarióticas, tais como eritrócitos de diferentes animais, células da retina, leucócitos polimorfonucleados e células epiteliais intestinais humanas. O segundo lantibiótico caracterizado em enterococos é a enterocina W, composta por dois peptídeos ($W\alpha$ e $W\beta$) e também ativa contra várias bactérias Gram-positivas (NES; DIEP; IKE, 2014).

1.6.6.1.2 Classe II: Peptídeos não modificados e não lantibióticos

A classe II compreende um grupo diverso de bacteriocinas cuja classificação ainda está em discussão. Esse grupo é dividido em quatro subclasses: IIa (enterocinas tipo pediocina e anti-*Listeria*), IIb (bacteriocinas com dois peptídeos), bacteriocinas *leaderless* e bacteriocinas circulares (NES; DIEP; IKE, 2014). As bacteriocinas da subclasse IIa (enterocinas tipo pediocina e anti-*Listeria*) são as mais abundantes entre as produzidas por espécies de enterococos. Essas bacteriocinas apresentam duas cisteínas na sequência consenso N-terminal, formando uma ponte dissulfeto que é pré-requisito para a

atividade microbiana. Essas enterocinas são de interesse particular porque inibem fortemente o crescimento de *L. monocytogenes* e *Enterococcus* spp. Segundo Nes, Diep e Ike (2014), treze bacteriocinas dessa subclasse foram isoladas e caracterizadas em diferentes espécies de enterococos. *E. faecium* é a espécie mais frequentemente produtora dessas bacteriocinas (enterocina A, enterocina P, bacteriocina GM-1, bacteriocina T8, bacteriocina RC714, bacteriocina 43), seguida por *E. faecalis* (bacteriocina 31, enterocina SE-K4, enterocina MC4-1), *E. mundtii* (munditicina KS, enterocina CRL-35, munditicina QU2), *E. hirae* (hiracina JM79), *E. avium* (avicina A) e *E. durans* (duracina GL).

As bacteriocinas da classe IIb são compostas por dois peptídeos que não apresentam sequências idênticas. Entretanto, as duas moléculas são necessárias para haver atividade antimicrobiana. Em alguns casos, os peptídeos individuais mostram alguma atividade antimicrobiana, mas esta é muito menor quando comparada com a atividade combinada de ambos os peptídeos em concentração molar equivalente. Três importantes bacteriocinas pertencem à classe IIb: enterocina C (composta pelos peptídeos C1 e C2), enterocina 1071 (composta pelos peptídeos A e B) e enterocina X (composta pelos peptídeos alfa (EntX_α) e beta (EntX_β)) (NES; DIEP; IKE, 2014).

Em contrapartida, os peptídeos das bacteriocinas *leaderless* apresentam sequências praticamente idênticas, e os peptídeos individuais são capazes de exercer atividade antimicrobiana significativa (NES; DIEP; IKE, 2014). Já as bacteriocinas circulares não são muito encontradas entre as bactérias ácido-láticas. A enterocina AS-48 foi originalmente isolada a partir de *E. faecalis*, e a sua genética tem sido estudada em grande detalhe, além das

características bioquímicas, estrutura e modo de ação (ALVAREZ-SIEIRO *et al.*, 2016).

1.6.6.2 Aplicações biotecnológicas

As bacteriocinas produzidas por enterococos têm apresentado grande potencial para utilização na indústria de alimentos, seja como biopreservantes ou como probióticos. Por outro lado, há poucos estudos voltados para sua aplicação na área da saúde, como potenciais moléculas antibióticas ou agentes antitumorais.

1.6.6.3 Tecnologia de alimentos

Os enterococos são comumente utilizados na indústria de alimentos, uma vez que são capazes de produzir uma série de substâncias, incluindo ácido láctico, peróxido de hidrogênio, diacetil e outros ácidos orgânicos. Dessa forma, essas bactérias representam uma importante ferramenta na tecnologia de produção de alimentos fermentados (GIRAFFA, 2002; FRANZ *et al.*, 2003).

A necessidade de se obterem alimentos de forma segura e livre de xenobióticos tem sido amplamente reconhecida. Nesse sentido, o estudo das bacteriocinas produzidas por enterococos tem atraído também grande interesse, nos últimos anos, pelo seu potencial como biopreservantes na indústria de alimentos. Algumas espécies de enterococos têm sido identificadas como produtoras de enterocinas que inibem bactérias deteriorantes de alimentos e

patogênicas, tais como *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium* spp. e *Bacillus* spp. (GIRAFFA, 2003).

As bacteriocinas podem ser adicionadas como preparações *ex situ* ou ser produzidas por cepas bacteriocinogênicas *in situ*, ou seja, no próprio alimento. Preparações de bacteriocina *ex situ* podem encontrar muitas aplicações, como, por exemplo, desenvolvimento de embalagens alimentares bioativas. Em alguns casos, a eficácia de bacteriocinas em sistemas alimentares é aparentemente limitada, com apenas uma redução parcial da carga microbiana ou inibição do crescimento das bactérias. No entanto, isso já pode ser suficiente para prolongar o tempo de conservação de alimentos, sem comprometer as suas propriedades organolépticas, como no caso de bactérias deteriorantes de alimentos (GALVEZ *et al.*, 2008).

Embora a maioria dos estudos tenham sido dedicados à preservação de produtos lácteos e carnes, as enterocinas também oferecem um grande potencial de preservação para outros alimentos (GALVEZ *et al.*, 2008; SETTANNI; CORSETTI, 2008). Laukova e Czikkova (1999) verificaram que a enterocina CCM 4231 apresentava ação bactericida contra *L. monocytogenes* e efeito bacteriostático contra *S. aureus* em leite de soja. De outra forma, a enterocina AS-48 tem sido usada em sucos de cidra, frutas e vegetais para a inibição e o controle de estruturas esporulantes de bactérias deteriorantes como *Bacillus licheniformis*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* e *B. coagulans* presentes nesses alimentos. Por sua vez, a enterocina EJ97 apresenta um potencial para preservar alimentos contaminados por isolados de *Bacillus macroides* e *Bacillus maroccanus* (SETTANNI; CORSETTI, 2008).

1.6.6.4 Probióticos

Na natureza, as bactérias são encontradas em todos os lugares e, com a disponibilidade de nutrientes, são capazes de colonizar novos habitats, incluindo o trato gastrointestinal. Os estudos têm mostrado que a microbiota do TGI tem uma grande influência sobre os processos nutricionais, fisiológicos, imunológicos e metabólicos do hospedeiro. Os micro-organismos possuem um papel significativo na obtenção de energia, no metabolismo de gorduras, na secreção e na síntese de nutrientes, vitaminas e aminoácidos (FRANZ *et al.*, 2011).

Nesse sentido, as bactérias têm um papel fundamental na saúde do hospedeiro, uma vez que a microbiota nativa suprime a colonização de bactérias invasoras patogênicas. Dessa forma, muitos gêneros bacterianos podem trazer efeitos benéficos, tais como os *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e os *Enterococcus* (probióticos), ou efeitos prejudiciais à saúde, como as infecções por *Salmonella* e *Escherichia coli* que acarretam gastos energéticos dispendiosos para o sistema imunitário do hospedeiro, podendo atrasar seu crescimento/desenvolvimento (GIRAFFA, 2003; SOLER *et al.*, 2010; CAMPOS *et al.*, 2013). Sob essa perspectiva, muitos enterococos isolados a partir de diferentes fontes vêm sendo utilizados como probióticos, contribuindo para o balanço microbiano do TGI e para o tratamento de gastroenterites em humanos e animais (FRANZ *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2014; LAUKOVA; KANDRICKAKOVA; SCERBOVA, 2015; GHOMRASSI *et al.*, 2016).

1.6.6.5 Potenciais agentes anticâncer

O câncer é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Sob condições normais, a renovação celular e a morte celular se mantêm em equilíbrio no organismo. Todavia, devido a fatores ambientais ou mutações genéticas herdadas, algumas células param de responder aos mecanismos de controle de crescimento normais e dão origem a clones de células que se expandem consideravelmente, produzindo um tumor ou neoplasia (HANAHA; WEINBERG, 2011; KAUR; KAUR, 2015).

Alguns estudos de revisão têm reportado o potencial terapêutico das bacteriocinas contra vários tipos de cânceres (KAUR; KAUR, 2015). A citotoxicidade das bacteriocinas para células cancerígenas é seletiva. Os mecanismos de ação ainda não estão muito claros; entretanto, alguns fatores que parecem contribuir para a atividade das bacteriocinas vêm sendo relatados. A membrana das células cancerígenas é conhecida por apresentar, predominantemente, carga negativa, devido aos altos níveis de fosfatidilserina aniônica, mucinas O-glicosiladas, sulfatos de heparina e gangliosídeos sialilados (UTSUGI *et al.*, 1991; SCHWEIZER, 2009; RIEDL *et al.*, 2011). As bacteriocinas, por outro lado, são peptídeos catiônicos por natureza e, portanto, ligam-se, preferencialmente, à membrana celular carregada negativamente das células cancerosas, quando comparadas com as membranas celulares das células normais, que apresentam carga neutra (HOSKIN; RAMAMOORTHY, 2008). Além disso, as células com câncer apresentam maior fluidez na membrana em comparação com as células normais. Isso favorece a desestabilização de membrana, o que também colabora para a ligação de bacteriocinas às células

cancerosas (SOK; SENTJURC; SCHARA, 1999). Não obstante, as membranas de células cancerosas contêm um número significativamente maior de microvilosidades em comparação com as células normais (CHAUDHARY; MUNSHI, 1995), resultando na ligação de um número maior de peptídeos antimicrobianos nessas células (CHAN *et al.*, 1998).

Microcin E492 (M-E492) é uma bacteriocina de baixa massa molecular (7.887 Da) que é secretada por *Klebsiella pneumoniae* RYC492. Essa bacteriocina é conhecida por ter atividade antimicrobiana potente contra bactérias patogênicas, tais como *E. coli*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Citrobacter* e *Enterobacter* (LORENZO, 1984). A M-E492 atua com a formação de poros na membrana celular de células-alvo, interrompendo o potencial de membrana celular (LORENZO; PUGSLEY, 1985; LAGOS *et al.*, 2009). Além disso, a M-E492 tem uma estrutura modular, e cada módulo tem uma função específica. A região N-terminal é o módulo responsável pela atividade antibacteriana, enquanto a C-terminal é necessária para o reconhecimento do receptor.

O efeito tóxico de M-E492 foi avaliado contra várias linhas de células humanas malignas, tais como a linhagem HeLa (adenocarcinoma cervical humano), Jurkat (células T derivadas de leucemia aguda), RJ2.25 (uma variante de linfoma de Burkitt) e células de carcinoma de colo retal. Por outro lado, não foi observado efeito contra células normais de medula óssea, esplenócitos, KG-1, células de tonsilas humanas e macrófagos derivados de células não tumorais (HETZ; BONO; BARROS, 2002).

1.6.6.6 Potenciais agentes antibióticos

Moléculas alternativas para o tratamento de infecções causadas por bactérias multirresistentes e vírus têm despertado o interesse de diversos grupos de pesquisa (TODOROV *et al.*, 2005; OKUDA *et al.*, 2013; DISCHINGER; CHIPALU; BIERBAUM, 2014; YANG *et al.*, 2014; CAVICCHIOLI *et al.*, 2018). As bacteriocinas têm muitas propriedades e características que sugerem que elas possam ser uma alternativa viável para o tratamento de doenças infecciosas, tais como a baixa toxicidade, disponibilidade de peptídeos de amplo/restrito espectro, possibilidade de produção *in situ* por linhagens probióticas. Esses peptídeos podem ser sintetizados ou expressados utilizando vetores de expressão (BASANTA *et al.*, 2010; COTTER; ROSS; HILL, 2013; PEREZ; ZENDO; SONOMOTO, 2014).

O potencial das bacteriocinas contra importantes patógenos clínicos varia de acordo com a subclasse dos peptídeos. Em geral, a classe I de bacteriocinas (lantibióticos) é mais ativa contra bactérias Gram-positivas, tais como *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus* (incluindo os *S. aureus* resistentes à meticilina – MRSA), enterococos resistentes à vancomicina (VRE), *Clostridium difficile*, entre outras espécies (COTTER; ROSS; HILL, 2013). Há muitas bacteriocinas da classe II com potencial atividade antimicrobiana contra *L. monocytogenes*, principalmente as bacteriocinas da classe IIa (COTTER; ROSS; HILL, 2013). Além disso, outras bacteriocinas da classe II, como a AS-48 (bacteriocina circular), apresentam atividade antimicrobiana contra isolados ambientais. Entretanto, sua atividade ainda não foi investigada contra isolados clínicos (COTTER; ROSS; HILL, 2013).

Wachsman *et al.* (1999) foram os primeiros a descrever um peptídeo antiviral (enterocina CRL35) produzido por cepas de *E. faecium*. A enterocina CRL35 inibiu as fases tardias do ciclo de multiplicação do HSV-1 e do HSV-2 (WACHSMAN *et al.*, 2003). Mais tarde, Todorov *et al.* (2005) revelaram que uma cepa de *E. mundtii* ST4V, isolada a partir de sementes de soja, produzia um peptídeo antibacteriano ativo contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, incluindo *E. faecalis*, *Streptococcus* spp., *S. pneumoniae* e *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. Além disso, Todorov *et al.* (2005) verificaram também que o peptídeo inativava os vírus Herpes simplex HSV-1 (linhagem F) e HSV-2 (estirpe G), um vírus da poliomielite (PV3, a estirpe Sabin) e um vírus do sarampo (estirpe MV/BRASIL/001/91, uma cepa atenuada de VM). O mecanismo envolvido na atividade antiviral não foi bem esclarecido no trabalho, mas os autores sugerem que possa estar relacionado à agregação de partículas de vírus ou ao bloqueio dos seus sítios receptores (TODOROV *et al.*, 2005).

Estudos demonstraram, ainda, que as bacteriocinas poderiam ter sua atividade melhorada a partir da combinação com outros agentes antimicrobianos. A nisina mostrou atividade sinérgica com os antibióticos polimixina E e claritromicina contra isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, e a enterocina CRL35 apresentou maior atividade contra isolados de *L. monocytogenes* quando combinada com outros antibióticos (GIACOMETTI *et al.*, 2000; SALVUCCI *et al.*, 2010; COTTER; ROSS; HILL, 2013).

Outrossim, devido à possibilidade de ação específica para um micro-organismo-alvo, as bacteriocinas se tornam menos prejudiciais para a microbiota do TGI do hospedeiro. Essa é uma das principais vantagens frente ao uso de

antibióticos convencionais (COTTER; ROSS; HILL, 2013; PEREZ; ZENDO; SONOMOTO, 2014).

Na busca por novos compostos, os ecossistemas marinhos estão recebendo maior atenção e têm provado ser uma rica fonte de moléculas biologicamente ativas que podem ser aplicadas não apenas contra bactérias, mas também contra inúmeras doenças, como câncer, distúrbios do sistema imunológico, vírus e fungos (DEMAYO, 2016; BREDHOLDT *et al.*, 2017; VADEN *et al.*, 2017). As estratégias de investigação estão sendo diversificadas, desde as abordagens clássicas de triagem *in vitro*, que são laboriosas e demoradas, até as abordagens de sequenciamento, que fornecem acesso a muitos *clusters* de genes aparentemente silenciosos que podem ser identificados por inspeção *in silico* de dados genômicos e metagenômicos (HEIDELBERG; GILBERT; JOINT, 2010; ZHANG *et al.*, 2017; GREGORY *et al.*, 2019). Uma grande variedade de novos agrupamentos de genes que codificam potenciais lantibióticos não caracterizados, tiopeptídeos, linardinas, glicocinas, bacteriocinas cianobacterianas e bacteriocinas de classe II tem sido descoberta pela análise *in silico*, representando novas possibilidades para o desenvolvimento de fármacos (ZHAO *et al.*, 2011; COTTER; ROSS; HILL, 2013; NEWMAN, 2017).

Sob essa perspectiva, a diversidade biológica fornecida pelo ambiente marinho expande as possibilidades de novos compostos. O potencial genético dos enterococos para produzir bacteriocinas pode ser determinado por meio de *screening* genômico. Tendo em vista a necessidade urgente de soluções para o crescente número de infecções causadas por bactérias resistentes a antibióticos, essas abordagens em larga escala podem contribuir para a investigação e a

elucidação mais eficientes de novos antibióticos naturais para uso animal e humano.

1.7 Pipelines para análise de dados genômicos

O número de estudos genômicos de procariotos tem aumentado consideravelmente com a expansão das tecnologias de sequenciamento de DNA e a diminuição no custo dos métodos. Entretanto, trabalhar com uma grande quantidade de dados ainda é um grande desafio para os pesquisadores.

Nessa direção, o desenvolvimento de *software* para auxiliar nas análises, na apresentação e na discussão dos dados biológicos tem se tornado cada vez mais importante (OLSHANNIKOVA *et al.*, 2015). *Pipelines* que integrem diferentes ferramentas, que possibilitem a análise de um conjunto extenso de dados, têm se mostrado extremamente úteis para facilitar e reduzir o tempo empregado nas análises genômicas. Além disso, o conjunto de dados pode ser facilmente observado quando representado graficamente. Sob essa perspectiva, estudos têm enfatizado a importância de se destacarem e relacionarem de forma ilustrativa e automatizada dados *in silico*, visto que esses dados são comumente gerados como planilhas de texto e as anotações são feitas manualmente (ROBERT, 2007; KRZYWINSKI *et al.*, 2014). Portanto, a organização espacial e visual dos dados permite realizar de forma mais eficiente as análises para tomada de decisão ou para obterem-se informações que seriam imperceptíveis se esses dados estivessem apenas no formato de planilha.

Nesse contexto, algumas ferramentas têm sido muito utilizadas para gerar gráficos circulares a partir de dados genômicos. Todavia, necessitam ser

configuradas de forma pouco amigável, como, por exemplo, o Circos (KRZYWINSKI *et al.*, 2009), ou dependem da instalação de ferramentas de apoio, como o BRIG (ALIKHAN *et al.*, 2011). O BRIG gera as figuras após a comparação entre um alinhamento de sequências utilizando-se o BLAST, que precisa estar instalado e configurado corretamente. Além disso, ferramentas que possam gerar imagens automaticamente em ambiente *web* e que sejam relacionadas com representação de elementos de plasticidade genômica fazem parte da apresentação dos resultados de algumas plataformas de análise, como nos casos do *Phaster* (ARNDT *et al.*, 2016) e do *IslandViewer4* (BERTELLI *et al.*, 2017). Entretanto, não há ferramentas que integrem os dados de várias análises em uma única imagem, o que reforça a importância de investirmos no desenvolvimento de mais ferramentas para representação de análises genômicas de procariotos por meio de figuras com referências posicionais completas e autoexplicativas.

No contexto atual, o grande volume de dados biológicos resultantes de análises genômicas ainda requer tratamento e elaboração de objetos gráficos representativos; contudo, continua sendo uma grande dificuldade no âmbito das pesquisas científicas. A capacidade de tratamento desses dados e de criação de imagens que exponham os resultados de forma didática e atrativa não é algo fácil, uma vez que requer conhecimento específico de tecnologia da informação, prática em configuração de ferramentas por meio de interfaces por terminais de linhas de comando ou, ainda, a configuração de parâmetros gravados em arquivos de texto. Diante disso, destaca-se a necessidade de construção de mais ferramentas de código aberto, de integração facilitada e que sejam capazes de, a partir de resultados gerados de análise genômica comparativa, construir

visualizações integrativas que reúnam diferentes análises numa mesma representação gráfica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo foi verificar a diversidade genética, a presença de determinantes de virulência e resistência, elementos genéticos móveis e genes que codificam moléculas bioativas em genomas de bactérias do gênero *Enterococcus* spp. associadas à microbiota de animais marinhos selvagens.

2.2 Objetivos específicos

- Selecionar um grupo representativo de bactérias pertencentes ao gênero *Enterococcus*, a partir de uma coleção proveniente de fezes de animais marinhos selvagens recuperados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil;
- Sequenciar o genoma completo dos *Enterococcus* spp. selecionados;
- Realizar a montagem, a anotação e o depósito dos genomas bacterianos sequenciados;
- Realizar a confirmação das espécies bacterianas;
- Determinar o resistoma e o viruloma das linhagens de enterococos de animais marinhos selvagens em estudo;
- Verificar a presença de elementos móveis associados à virulência e à plasticidade genômica no genoma dessas bactérias;

- Identificar, nos *Enterococcus* spp. de animais marinhos, a presença de *clusters* de genes precursores de moléculas bioativas;
- Caracterizar *in silico* potenciais enterococos probióticos;
- Realizar estudos de genômica comparativa e filogenômica para melhor compreender a história evolutiva de linhagens marinhas de *Enterococcus* e sua relação com linhagens de importância clínica;
- Desenvolver ferramentas de bioinformática aplicadas à caracterização genômica de enterococos.

3 METODOLOGIA

Os materiais e os métodos utilizados nesta pesquisa estão descritos nos artigos científicos (1, 2, 3 e 4) apresentados na seção de resultados deste trabalho.

4 RESULTADOS

Conforme as normas para elaboração de teses do Programa de Pós-Graduação em Biociências da UFCSPA, os resultados obtidos neste estudo serão apresentados na forma de artigos científicos, redigidos em inglês e formatados de acordo com as normas das revistas às quais serão submetidos para publicação.

4.1. Enterococos de pinguins-de-Magalhães selvagens (*Spheniscus magellanicus*) fornecem um indicador sensível da saúde do ecossistema marinho e do impacto humano

Artigo 1 – *Enterococci from wild Magellanic penguins (Spheniscus magellanicus) provides a sensitive indicator of marine ecosystem health and human impact*

Periódico escolhido para submissão:

mBio (ISSN: 2150-7511)

Índice de impacto:

6.747 (2018-2019)

Qualis CAPES (Ciências Biológicas I):

A1

Normas para submissão:

O manuscrito foi redigido de acordo com as orientações e as normas disponibilizadas pelo periódico para a categoria de artigos originais de pesquisa (*Research Article*), disponíveis no seguinte endereço: <https://mbio.asm.org/sites/default/files/additional-assets/mbio-ITA.pdf>.

4.2 Mineração de genomas de enterococos associados a animais marinhos selvagens por compostos antimicrobianos

Artigo 2 – *Genome mining for antimicrobial compounds in wild marine animals-associated enterococci*

Periódico escolhido para submissão:

Antibiotics (ISSN 2079-6382)

Índice de impacto:

2.921 (2018)

Qualis CAPES (Ciências Biológicas I):

A1

Normas para submissão:

O manuscrito será encaminhado para a edição especial *Marine Antimicrobials* (https://www.mdpi.com/journal/antibiotics/special_issues/Marine_Antimicrobials_Antibiotics) e foi redigido de acordo com as orientações e as normas disponibilizadas pelo periódico para a categoria de artigos originais de pesquisa (*Original Research Manuscript*), disponíveis no seguinte endereço: <https://www.mdpi.com/journal/antibiotics/instructions>).

4.3 JAMIRA: um *pipeline* reprodutível e escalável para análise genômica de procariotos

Artigo 3 – *JAMIRA: a reproducible and scalable pipeline for genomic analysis of prokaryotes*

Periódico escolhido para submissão:

Bioinformatics (ISSN 1460-2059)

Índice de impacto:

4.531 (2018)

Qualis CAPES (Ciências Biológicas I):

A1

Normas para submissão:

O manuscrito foi redigido de acordo com as orientações e as normas disponibilizadas pelo periódico para a categoria de artigos “*Application Notes*”, disponíveis no seguinte endereço:

https://academic.oup.com/bioinformatics/pages/instructions_for_authors.

4.4 Uma ferramenta simples para visualização posicional dos resultados gerados pelas plataformas de análise genômica comparativa de procariotos

Artigo 4 – *A simple tool for positional view of results generated by comparative genomic analysis platforms of prokaryotes*

Periódico escolhido para submissão:

Bioinformatics (ISSN 1460-2059)

Índice de impacto:

4.531 (2018)

Qualis CAPES (Ciências Biológicas I):

A1

Normas para submissão:

O manuscrito foi redigido de acordo com as orientações e normas disponibilizadas pelo periódico para a categoria de artigos “*Application Notes*”, disponíveis no seguinte endereço:

https://academic.oup.com/bioinformatics/pages/instructions_for_authors.

5 DISCUSSÃO

O ambiente marinho apresenta uma grande diversidade de espécies, macro e microscópicas, que prestam serviços ecossistêmicos de relevância ambiental e que apresentam alto potencial de abrigar fontes de novos compostos bioativos. Contudo, há evidências extensas de que o impacto antrópico e a poluição vêm afetando e gerando riscos às populações desses ambientes naturais.

Nesse sentido, estudos vêm sendo desenvolvidos para entender a microbiota presente nas espécies marinhas selvagens, e agentes biológicos isolados a partir desses animais vêm sendo utilizados como indicadores da saúde animal e de perturbações do ecossistema marinho (JOHNSON; NOLAN; GULLAND, 1998, THORNTON; NOLAN; GULLAND, 1998; LISLE *et al.*, 2004, LOCKWOOD; CHOVAN; GAYDOS, 2006,; RAHMAN *et al.*, 2015; GUASS *et al.*, 2016; MEDEIROS *et al.*, 2016). Além disso, as bactérias encontradas no trato gastrointestinal dos animais têm sido relacionadas a complexos clonais virulentos e até mesmo conhecidos mundialmente por surtos hospitalares, constituindo, assim, um potencial risco à saúde de animais marinhos, de humanos e/ou ao ambiente marinho em geral (ROSE *et al.*, 2009; STEWART *et al.* 2014; DUFF *et al.*, 2016; MARCELINO *et al.*, 2019).

Apesar das dificuldades em se obterem amostras de espécies marinhas, em decorrência dos hábitos migratórios desses animais e da dificuldade inerente de se acessar esses ambientes, estudos envolvendo o gênero *Enterococcus* associados a espécies marinhas selvagens têm sido realizados (BARROS *et al.*, 2011, MARINHO *et al.*, 2013; SANTESTEVAN *et al.*,

2015, PRICHULA *et al.*, 2016a; MEDEIROS *et al.*, 2017; COMERLATO *et al.*, 2016; GHOMRASSI *et al.*, 2016). Alguns estudos têm identificado genes de resistência antimicrobiana e virulência em enterococos, por meio de metodologias convencionais, tais como a associação de testes fenotípicos e PCR gene-específicos, a fim de inferir sobre a virulência dessas bactérias (BARROS *et al.*, 2011, MARINHO *et al.*, 2013; SANTESTEVAN *et al.*, 2015, PRICHULA *et al.*, 2016a).

Com a crescente evolução dos métodos de sequenciamento, estudos envolvendo genômica comparativa e filogenômica têm revelado informações acerca da organização do genoma do gênero *Enterococcus*, permitindo elucidar melhor linhagens comensais e virulentas (LEBRETON *et al.*, 2013; RAVEN *et al.*, 2016a; LEBRETON *et al.*, 2017; BONACINA *et al.*, 2017; BEUCKERS *et al.*, 2017). Apesar do crescente aumento no número de genomas de enterococos disponíveis (~ 3.763), há apenas dez genomas oriundos de ecossistemas marinhos disponíveis em bancos de dados públicos. Destes dez genomas, cinco pertencem à espécie *E. faecalis*, sendo um genoma completo (GCA_003345275.1) e quatro incompletos (GCA_000320305.1; GCA_000505585.1; GCA_001400055.1 e GCA_001400065.1), quatro pertencem à espécie *E. faecium* (GCA_002141115.1; GCA_002140375.1; GCA_002233655.1 e GCA_002140315.1) e apenas um à espécie *E. aquamarinus* (GCA_001885765.1). Dos genomas depositados, apenas dois foram caracterizados em trabalhos publicados (SPENCE *et al.*, 2014; PRICHULA *et al.*, 2016b). Spence *et al.* (2014) elucidaram o genoma de *E. faecalis* (PF3) isolado de fezes de pinguim-de-Adélia (*Pygoscelis adeliae*) da ilha de Warriner, na Antártica. O estudo revelou que o genoma apresentava uma ilha de

patogenicidade, várias sequências de plasmídeos e três CRISPRs. Em um estudo anterior do nosso grupo de pesquisa, foi relatado um isolado de *E. faecalis* (P8-1) proveniente de fezes de pinguim-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) apresentando sequências de fagos, bacteriocinas e dois CRISPRs no genoma (PRICHULA *et al.*, 2016b).

Sob essa perspectiva, o presente estudo contribuir com mais informações sobre enterococos oriundos de animais marinhos selvagens. Com base na análise de informações obtidas de 27 genomas de enterococos associados a aves, répteis e mamíferos, buscou-se investigar a diversidade genética dessas bactérias, bem como identificar novas características, tais como elementos genéticos móveis e genes codificantes de moléculas bioativas que possam ter papel importante para a adaptação dessas bactérias no TGI de vertebrados marinhos, assim como demonstrar o nível de impacto antrópico e a influência de linhagens patogênicas nesse hábitat.

No primeiro artigo científico apresentado neste trabalho, foram avaliadas a relação genética e a presença de características de virulência entre 172 enterococos isolados a partir fezes de pinguins-de-Magalhães selvagens encontrados na costa brasileira. Dezesete perfis clonais foram identificados por eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), cinco perfis clonais diferentes para *E. faecalis* (n = 74), seis para *E. faecium* (n = 58), cinco para *E. hirae* (n = 22) e um para *E. mundtii* (n = 18). Um único grupo de linhagens (L3) de *E. faecalis* foi obtido de três pinguins diferentes, enquanto a maioria dos enterococos de pinguins representava um único perfil PFGE. Poucos determinantes de virulência foram encontrados entre as diferentes espécies de enterococos.

Os genomas dos principais perfis de grupos de linhagens de *E. faecalis* foram sequenciados e comparados filogeneticamente com 51 *E. faecalis* recuperados de diversas origens nos últimos 100 anos. Como resultado, verificou-se que os *E. faecalis* não estavam intimamente relacionados aos isolados clínicos e não carregavam potenciais determinantes de virulência, sugerindo que essas linhagens possam ser endêmicas do ambiente colonizado pelos pinguins. Nossas descobertas também revelam a presença de plasmídeos em diferentes linhagens de *E. faecalis*, pressupondo que esses genomas acessórios possam ser um recurso para melhorar a aptidão e a adaptação ao ambiente marinho. Por fim, o estudo propõe que essas linhagens que representam a diversidade natural de *E. faecalis* em pinguins continuem sendo monitoradas, a fim de verificar-se possível relação com as linhagens adaptadas ao ambiente hospitalar, utilizando como indicadores sensíveis da saúde do ecossistema marinho e do nível de impacto humano.

A diversidade biológica fornecida pelo ambiente marinho expande as possibilidades de novos compostos. A biotecnologia azul (ou biotecnologia marinha) é uma área crescente na investigação da rica diversidade de moléculas bioativas produzidas por organismos marinhos com aplicações industriais e terapêuticas (BUONOCORE, 2012; REEN, 2015; DE LA CALLE, 2017; SMITH *et al.*, 2019). Uma rica fonte de compostos naturais biologicamente ativos provenientes de esponjas, cianobactérias, fungos, algas e bactérias tem sido aplicada na medicina humana contra diversas doenças, como câncer, distúrbios do sistema imunitário e infecções virais, fúngicas e bacterianas (DEBBAB *et al.*, 2010; BARONE *et al.*, 2014; ROYAL SOCIETY, 2017; ROMANO *et al.*, 2017).

O segundo artigo científico contemplou o estudo de 22 enterococos recuperados de amostras de fezes de aves, tartarugas e mamíferos marinhos selvagens, visando avaliar o potencial biotecnológico dessas espécies a partir da identificação de genes codificantes de moléculas bioativas. Estudos anteriores destacam que os micro-organismos marinhos representam uma valiosa fonte de moléculas biologicamente ativas que podem refletir o potencial biossintético desses ecossistemas (DESRIAC *et al.*, 2010; BREDHOLDT *et al.*, 2007, CHEN; WONG; BURNS, 2019). As facilidades geradas pelos novos métodos de sequenciamento disponíveis forneceram aos pesquisadores o acesso a muitos *clusters* de genes de moléculas bioativas, como, por exemplo, os codificantes de bacteriocinas, os quais têm sido identificados por meio de metodologias de triagem *in silico* de dados genômicos e metagenômicos bacterianos (HEIDELBERG; GILBERT; JOINT, 2010; ZHANG *et al.*, 2017; GREGORY *et al.*, 2019). Uma grande variedade de novos agrupamentos de genes potencialmente codificantes de lantibióticos não caracterizados, tiopeptídeos, linardinas, glicocinas, bacteriocinas cianobacterianas tem sido revelada em genomas bacterianos (ZHAO *et al.*, 2011; COTTER; ROSS; HILL, 2012; NEWMAN, 2017).

Nosso estudo forneceu evidências da biodiversidade significativa de *clusters* codificantes de compostos antimicrobianos presentes em enterococos isolados de animais marinhos selvagens, incluindo bacteriocinas, terpenos e NRPS, usando as aplicações antiSMASH 5.0 e Bagel4. O potencial terapêutico de bacteriocinas produzidas por enterococos tem sido relatado na literatura e compreende atividade contra vírus (ERMOLENKO *et al.*, 2018) e diferentes gêneros bacterianos Gram-positivos (*Listeria*, *Clostridium*, *Staphylococcus*,

Streptococcus e *Propionibacterium*) e Gram-negativos (*Pseudomonas* e *Salmonella*) (CALY *et al.*, 2017; COTTER; ROSS; HILL, 2013; JENNES; DICKS; VERWOERD, 2000). As bacteriocinas também foram descritas por apresentarem atividade antimicrobiana contra bactérias resistentes a antibióticos, tais como enterococos resistentes à vancomicina (VRE), *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e Enterobacteriaceae produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) (HANCHI *et al.*, 2018). As propriedades imunomoduladoras e anticâncer das enterocinas são outras aplicações muito promissoras; entretanto, essas atividades devem ser mais exploradas (AL-FAKHARANY *et al.*, 2018; ANKAIAH *et al.*, 2018).

Adicionalmente, a análise do genoma dos enterococos provenientes de animais marinhos pode revelar potenciais linhagens probióticas. Com a ajuda desses marcadores genômicos, linhagens que abrigam genes que codificam atributos probióticos, como tolerância a ácidos e a sais biliares, adesão epitelial e produção de bacteriocinas, podem ser identificadas rapidamente, podendo ser aplicadas na indústria de fármacos e alimentos ou usadas como biomarcadores para seleção de novos probióticos (HANCHI *et al.*, 2018). Portanto, nosso estudo contribui com informações para o desenvolvimento futuro de fármacos à base de moléculas naturais que possam vir a ser utilizadas na saúde animal e humana ou mesmo como aditivos para a preservação de alimentos.

Ainda neste contexto focado em estudos genômicos, no terceiro e no quarto artigos desta tese foram apresentados dois *pipelines* reprodutíveis e escalonáveis desenvolvidos para análise de dados genômicos de procariotos. O primeiro *software* (artigo científico 3) foi projetado, especificamente, para o gênero *Enterococcus* e combina a predição de elementos genéticos móveis e a

identificação de genes de resistência e virulência que podem estar associados à adaptação de bactérias comensais e clínicas. Com essa estrutura-base desenvolvida, será realizada a adaptação desse *pipeline* para outros gêneros microbianos, buscando facilitar e agilizar a análise de um grande número de genomas, tornando-a fácil e integrando as perspectivas deste trabalho. O segundo *pipeline* (artigo científico 4) propõe outra ferramenta que possibilita a construção de representações gráficas para apresentação dos resultados de análise de genomas completos, como os gerados pela primeira ferramenta, propiciando a apresentação e o posicionamento dos elementos de plasticidade nos genomas procariotos em estudo.

Diante do exposto, neste estudo foram obtidas informações importantes sobre os genomas de enterococos associados a animais marinhos selvagens. Estudos em nível genômico de linhagens pouco conhecidas como estas são pioneiros e contribuem para os avanços nos conhecimentos na área. Os dados gerados com este trabalho contribuem em vários aspectos, incluindo os ambientais, ecológicos e evolutivos, bem como os aplicados à biotecnologia. Além disso, este trabalho tornará disponíveis duas ferramentas robustas e escalonáveis que poderão ser usadas para facilitar o trabalho dos pesquisadores, auxiliando na automação de tarefas, reprodutibilidade e apresentação de dados genômicos como os gerados neste estudo.

Cabe salientar a importância da realização de mais estudos voltados para a compreensão das relações entre os micro-organismos e os hospedeiros marinhos, a fim de auxiliar no manejo e na conservação das espécies animais marinhas, assim como de todo o hábitat.

6 CONCLUSÃO

Por meio deste trabalho de pesquisa, foi possível obter informações importantes sobre o genoma de linhagens de *Enterococcus* spp. associadas à microbiota intestinal de animais marinhos selvagens. O estudo apresentado fornece novos conhecimentos a respeito da diversidade genética de enterococos isolados de espécies marinhas selvagens, com análises que contribuem para a compreensão da história evolutiva desses *Enterococcus* e sua relação com linhagens clinicamente relevantes. O estudo demonstrou que a presença de algumas linhagens resistentes aos antibióticos em espécies marinhas selvagens pode estar relacionada com as interações na cadeia alimentar, os poluentes aquáticos ou o resistoma ambiental. Isso sugere que *Enterococcus* isolados de animais marinhos selvagens podem servir como bioindicadores do ecossistema marinho e dos impactos antrópicos, podendo ser utilizados como linha de base importante para futuros estudos de conservação e monitoramento.

Além disso, os enterococos associados a esses animais podem representar uma fonte valiosa de novos compostos para aplicação biotecnológica e geração de novos fármacos. Demonstraram-se também a possibilidade e a importância do desenvolvimento de *pipelines* robustos e escalonáveis para a automação de tarefas na análise de grande volume de dados genômicos, assim como para garantir a reprodutibilidade dos dados gerados pelos pesquisadores, como os obtidos neste trabalho.

Em conclusão, este estudo contribui de forma robusta para a compreensão de vários aspectos relacionados às bactérias pertencentes ao gênero *Enterococcus* que colonizam o intestino de animais marinhos, trazendo

cerca de três vezes mais informações genômicas do que o disponível em bancos de dados públicos até o momento. Atualmente, apenas dez genomas de enterococos marinhos encontram-se disponíveis em bancos públicos, sendo estes das espécies *E. faecalis*, *E. fecium* e um da espécie *E. aquamarinus*. Com a conclusão deste estudo, 27 novos genomas serão publicados, contemplando diversas espécies do gênero, incluindo *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. faecalis*, *E. fecium*, *E. hirae* e *E. munditii*. As informações obtidas neste estudo serão importantes para futuros estudos, tanto os voltados para propósitos ambientais, ecológicos e evolutivos como os que tenham por finalidade a bioprospecção voltada para a elucidação de novos compostos bioativos e para a identificação de potenciais linhagens probióticas. Ademais, os *pipelines* desenvolvidos contribuirão para automatizar a análise de dados comparativa de genomas completos, bem como para elucidar mecanismos biológicos de enterococos associados a riscos para a saúde pública.

REFERÊNCIAS

- AARESTRUP, F. M. *et al.* Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, New York, v. 37, n. 2, p. 127-137, jun. 2000.
- AHMAD, A. *et al.* Occurrence of *Enterococcus* species with virulence markers in an urban flow-influenced tropical recreational beach. **Marine Pollution Bulletin**, London, v. 82, n. 1-2, p. 26-38, 15 may 2014.
- AL-FAKHARANY, O. M. *et al.* Immunomodulatory and Anticancer Activities of Enterocin Oe-342 Produced by *Enterococcus Faecalis* Isolated from Stool. **J Clin Cell Immunol**, [S.l.], v. 9, n. 5, 19 sep. 2018.
- ALIKHAN, N.-F. *et al.* Blast ring image generator (brg): simple prokaryote genome comparisons. **BMC genomics**, London, v. 12, n. 1, p. 402, 2011.
- ALMEIDA, A. P. *et al.* Avaliação do Estado de Conservação da Tartaruga Marinha *Chelonia Mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, Brasília, DF, n. 1, p. 12-19, 2011.
- ALVAREZ-SIEIRO, P. *et al.* Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 2939-2951, 2016.
- ANDREWES, F. W.; HORDER, T. J. A study of streptococci pathogenic for man. **Lancet**, New York, v. 168, n. 4335, p. 852-855, 1906.
- ANKAIAH, D. *et al.* Cloning, overexpression, purification of bacteriocin enterocin-B and structural analysis, interaction determination of enterocin-A, B against pathogenic bacteria and human cancer cells. **Int J Biol Macromol.**, Amsterdam, v. 116, p. 502-512, sep. 2018.
- ARNDT, D. *et al.* Phaster: a better, faster version of the phast phage search tool. **Nucleic acids research**, Oxford, v. 44, n. W1, p. W16–W21, 2016.
- BADGLEY, B. D.; NAYAK, B. S.; HARWOOD, V. J. The importance of sediment and submerged aquatic vegetation as potential habitats for persistent strains of enterococci in a subtropical watershed. **Water Research**, London, v. 44, n. 20, p. 5857-5866, dec. 2010.
- BALDASSIN, P. *et al.* Cephalopods in the diet of magellanic penguins *Spheniscus magellanicus* found on the coast of Brazil. **Marine Ornithology**, Rondebosch, South Africa, v. 38, n. 1, p. 55-57, 2010.
- BARONE, R. *et al.* Marine metagenomics, a valuable tool for enzymes and bioactive compounds discovery. **Frontiers in Marine Science**, Lausanne, Switzerland, v. 4, sep. 2014.

BARROS, J. *et al.* Gilthead seabram (*Sparus aurata*) carrying antibiotic resistant enterococci. A potential bioindicator of marine contamination? **Marine Pollution Bulletin**, London, v. 62, n. 6, p. 1245-1248, jun. 2011.

BASANTA, A. *et al.* Use of the yeast *Pichia pastoris* as an expression host for secretion of enterocin L50, a leaderless two-peptide (L50A and L50B) bacteriocin from *Enterococcus faecium* L50. **Appl Environ Microbiol**, Newark, USA, v. 76, n. 10, p. 3314-3324, may 2010.

BATES, J.; JORDENS, Z.; SELKON, J. B. Evidence for an animal origin of vancomycin-resistant enterococci. **Lancet**, New York, v. 342, p. 490-491, 21 aug. 1993.

BENCKE, G. A. *et al.* Revisão e atualização da lista das aves do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Sér. Zool.**, Porto Alegre, v. 100, n. 4, p. 519-556, 30 dez. 2010.

BENDER, E. A. *et al.* Identification, antimicrobial resistance and genotypic characterization of *Enterococcus* spp. isolated in Porto Alegre, Brazil. **Brasilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 40, p. 693-700, 2009.

BENNANI, M. *et al.* Identification and antimicrobial resistance of fecal Enterococci isolated in Coastal Mediterranean environments of Morocco. **European Journal of Scientific Research**, Victoria, Seychelles, v. 70, n. 2, p. 266-275, 2012.

BERTELLI, C. *et al.* Islandviewer 4: expanded prediction of genomic islands for larger-scale datasets. **Nucleic acids research**, Oxford, v. 45, n. W1, p. W30–W35, 2017

BERTELLOTTI, M. **Pingüino de Magallanes**: Embajador de la Patagonia/ Magellanic Penguin: Patagonian Ambassador. Ciudad Autonoma de Buenos Aires: Vazquez Mazzini, 2013.

BEUCKERS, A. G. *et al.* Comparative genomics of *Enterococcus* spp. isolated from bovine feces. **BMC Microbiology**, London, n. 17, article number 57, 8 mar. 2017.

BINI, E. **Aves aquáticas do Brasil**.: Florianópolis: Homem-pássaro, 2014. 136 p.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. ***Spheniscus magellanicus***. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T22697822A132605485. Cambridge, 2018a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T22697822A132605485.en>. Acesso em: 21 nov. 2019.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. ***Sterna trudeaui***. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T22694651A132565263. Cambridge, 2018b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T22694651A132565263.en>. Acesso em: 23 nov. 2019.

- BIRDLIFE INTERNATIONAL. Cambridge, c2019. Disponível em: <http://datazone.birdlife.org/sowb/spotseabirds-253>. Acesso em: 10 nov. 2019.
- BOERSMA, P. D. Penguins as marine sentinels. **BioScience**, Herndon, USA, v. 58, n. 7, p. 597-607, jul./aug. 2008.
- BOGOMOLNI A. *et al.* Victims or Vectors: A Survey of Marine Vertebrate Zoonoses from Coastal Waters of the Northwest Atlantic. **Dis Aquat Org.**, Oldendorf/Luhe, Germany, v. 81, n. 1, p. :13-38, 19 aug. 2008.
- BONACINA, J. *et al.* A genomic view of food-related and probiotic *Enterococcus* strains. DNA research: an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes, **DNA Res.**, Tokyo, v. 24, n. 1, p. 11-24, 1 feb. 2017.
- BOOTH, M. C. *et al.* Structural analysis and proteolytic activation of *Enterococcus faecalis* cytolysin, a novel lantibiotic. **Molecular microbiology**, England, v. 21, issue 6, p. 1175-1184, sep. 1996.
- BOURGOGNE, A. *et al.* Large scale variation in *Enterococcus faecalis* illustrated by the genome analysis of strain OG1RF. **Genome Biology**, London, v. 9, n. 7, 2008.
- BRANCO, J. O.; BARBIERI, E.; FRACASSO, H. A. A. Técnicas de pesquisa em aves marinhas. In: VON MATTER, S. *et al.* (org.). **Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2010. p. 219-235.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente – MMA. **Biodiversidade**. Brasília, DF, 2019a. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-aquatica/zona-costeira-e-marinha>. Acesso em: 5 nov. 2019.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente – MMA. **Estratégia e Plano de Ação Nacionais para a Biodiversidade – EPANB: 2016-2020** / Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade, Departamento de Conservação de Ecossistemas. Brasília, DF: MMA, 2017.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente – MMA. Secretaria de Biodiversidade e Florestas. **Quinto Relatório Nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica**. Brasília, DF: MMA, 2016.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente – MMA. **Sítios Ramsar**. Brasília, DF, 2019b. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/areas-protegidas/instrumentos-de-gestao/s%C3%ADtios-ramsar.html>. Acesso em: 5 nov. 2019.
- BREDHOLDT, H. *et al.* Rare actinomycete bacteria from the shallow water sediments of the Trondheim fjord, Norway: Isolation, diversity and biological activity. **Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 9, p. 2756-2764, 2007.

- BUONOCORE, F. Marine biotechnology: Developments and perspectives. **Journal of Aquaculture Research and Development**, India, v. 4, n. 2, dec. 2012.
- BYAPPANAHALLI, M. N. *et al.* Enterococci in the Environment. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, DC, v. 76, n. 4, p. 685-706, dec. 2012.
- CALY, D. L. *et al.* The safe enterocin DD14 is a leaderless two-peptide bacteriocin with anti-*Clostridium perfringens* activity. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 49, p. 282-289, 2017.
- CAMARGO, I. L. B. C. *et al.* Virulence factors in vancomycin-resistant and vancomycin – susceptible *Enterococcus faecalis* from Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, p. 273-278, 2008.
- CAMPOS, S. D. E. *et al.* Identificação de *Edwardsiella tarda* em processo septicêmico em *Spheniscus magellanicus* (Sphenisciformes: Spheniscidae): relato de caso. **Rev. Bras. Med. Vet.**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p. 224-228, jul./set. 2013.
- CÁRDENAS-ALAYZA, S.; OLIVEIRA, L.; CRESPO, E. **Arctocephalus australis**. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T2055A45223529. Cambridge, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T2055A45223529.en>. Acesso em: 22 nov. 2019.
- CASSENEGO, A. P. V. *et al.* Species distribution and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from broilers infected experimentally with *Eimeria* spp. and fed with diets containing different supplements. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 42, p. 480- 488, 2011.
- CATTOIR, V.; LECLERCQ, R. Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: is it time to divorce?. **J. Antimicrob. Chemother.**, Oxford, v. 68, n. 4, p. 731-742, 2 dec. 2012.
- CAVICCHIOLI, V. Q. Inhibition of Herpes simplex virus 1 and Poliovirus (PV-1) by bacteriocins from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Enterococcus durans* strains isolated from goat milk. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 51, n. 1, p. 3-37, jun. 2018.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC. **Antibiotic resistance threats in the United States 2019**. Atlanta, GA: U. S. Department of Health and Human Services, CDC, 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2019.
- CENTRO DE ESTUDOS COSTEIROS, LIMNOLÓGICOS E MARINHOS – CECLIMAR. **Centro de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos – CERAM**. Imbé, RS, 2019. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/ceclimar/ceram/>. Acesso em: 28 out. 2019.

CENTRO DE RECUPERAÇÃO DE ANIMAIS MARINHOS – CRAM. Museu Oceanográfico da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, c2019. Disponível em: <http://www.fcrg.org.br/site/projetos/visualizar/10>. Acesso em: 23 nov. 2019.

CERCHIARA, J. Penguins. In: *ENCYCLOPEDIA of reproduction*. 2nd. ed. Cambridge, MA: Academic Press, 2018.

CHAN, S. C. *et al.* Microscopic observations of the different morphological changes caused by anti-bacterial peptides on *Klebsiella pneumoniae* and HL-60 leukemia cells. **Journal of peptide science: an official publication of the European Peptide Society**, Spain, v. 4, n. 7, p. 413-425, nov. 1998.

CHATTERJEE, A. *et al.* Parallel genomics uncover novel enterococcal-bacteriophage interactions. **bioRxiv**, [online], Cold Spring Harbor, USA, 29 nov. 2019.

CHAUDHARY, J.; MUNSHI, M. Scanning electron microscopic analysis of breast aspirates. **Cytopathology**: official journal of the British Society for Clinical Cytology, London, v. 6, p. 162-167, 1995.

CHEN, R.; WONG, H.; BURNS, B. New Approaches to Detect Biosynthetic Gene Clusters in the Environment. **Medicines**, v. 6, n. 2019.

CHOW, J. W. *et al.* Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis. **Antimicrob Agents Chemother**, Washington, DC, v. 37, p. 2474-2477, 1993.

CLEWELL, D. B. Properties of *Enterococcus faecalis* plasmid pAD1, a member of a widely disseminated family of pheromone-responding, conjugative, virulence elements encoding cytolysin. **Plasmid**, San Diego, USA, v. 58, p. 205-227, 2007.

COBURN, P. S.; GILMORE, M. S. The *Enterococcus faecalis* cytolysin: a novel toxin active against eukaryotic and prokaryotic cells. **Cellular Microbiology**, Oxford (UK), v. 5, n. 10, p. 661-669, 2003.

COMERLATO, C. B. *et al.* Antimicrobial compounds produced by *Enterococcus* spp. isolates from fecal samples of wild South American fur seals. **Journal of Microbiology and Antimicrobials**, Netherlands, v. 8, n. 3, p. 14-21, apr. 2016.

COOKE, J. G. ***Balaenoptera acutorostrata***. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T2474A50348265. Cambridge, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T2474A50348265.en>. Acesso em: 24 nov. 2019.

COTTER, P. D.; ROSS, R. P.; HILL, C. Bacteriocins – a viable alternative to antibiotics? **Nat Rev Microbiol.**, London, v.11, n. 2, p. 95-105, feb. 2013.

D'AZEVEDO, P. A.; DIAS, C. A. G.; TEIXEIRA, L. M. Genetic diversity and antimicrobial resistance of enterococcal isolates from southern region of Brazil.

Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, v. 48, n. 1, p. 11-16, jan./feb. 2006.

DADA, A. C. *et al.* Speciation and antimicrobial resistance of *Enterococci* isolated from recreational beaches in Malaysia. **Environ. Monit. Assess.**, Dordrecht, Netherlands, v. 185, p. 1583-1599, 2013.

DALLA-COSTA, L. M. *et al.* Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: first case in Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v. 2, p. 160-163, 1998.

DANTAS, G. P. M. *et al.* Evidence for northward extension of the winter range of magellanic penguins along the Brazilian Coast. **Marine Ornithology**, Rondebosch, South Africa, v. 41, p. 195- 197, 2013.

DE LA CALLE, F. Marine microbiome as source of natural products. **Microbial Biotechnology**, Hoboken, USA, v. 10, n. 6, p. 1293-1296, nov. 2017.

DE PERIO, M. *et al.* Risk factors and outcomes associated with non-*Enterococcus faecalis*, non-*Enterococcus faecium* enterococcal bacteremia. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Cambridge, v. 27, n. 1, p. 28-33, jan. 2006.

DEBBAB, A. *et al.* Bioactive compounds from marine bacteria and fungi: Minireview. **Microbial Biotechnology**, Hoboken, USA, v. 3, p. 544-563, 2010.

DEMAYO, J. A. *et al.* Draft genome sequence of *Streptomyces* sp. AVP053U2 isolated from *Styela clava*, a tunicate collected in Long Island Sound. **Genome Announcements**, Washington, DC, v. 4, n. 5, p. e00874-16, oct. 2016.

DESRIAC, F. *et al.* Bacteriocin as weapons in the marine animal-associated bacteria warfare: Inventory and potential applications as an aquaculture probiotic. **Marine Drugs**, Basel, Switzerland, v. 8, n.4, p. 1153-1177, 4 apr. 2010.

DEVRIESE, L. A. *et al.* Characterization and Identification of *Enterococcus* Species Isolated from the Intestines of Animals. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, USA, v. 37, n. 3, p. 257-259, jul. 1987.

DEVRIESE, L. A. *et al.* Composition of the enterococcal and streptococcal intestinal flora of poultry. **J. Appl. Bacteriol.**, Oxford, 71, n. 1, p. 46-50, 1991.

DEWAR, M. **Gastrointestinal microbiota of seabirds**. 2012. 221 f. Thesis (Doctorate of Philosophy) – Deakin University, Australia, 2012.

DISCHINGER, J.; CHIPALU, S. B.; BIERBAUM, G. Lantibiotics: Promising candidates for future applications in health care. **International Journal of Medical Microbiology**, Jena, Germany, v. 304, p. 51-62, 2014.

DUFF, J. P. *et al.* *Klebsiella pneumoniae* of suspected human origin from free-living common seals on the east coast of England. **Veterinary Record**, London, v. 179, n. 25, 24 dec. 2016.

DUNNY, G. M. The peptide pheromone-inducible conjugation system of *Enterococcus faecalis* plasmid pCF10: cell-cell signalling, gene transfer, complexity and evolution. **Philos Trans R Soc B Biol Sci**, London, v. 362, p. 1185-1193, 2007

DUNNY, G. M.; HANCOCK, L. E.; SHANKAR, N. Enterococcal biofilm structure and role in colonization and disease. In: GILMORE, M. S. *et al.* (eds.). **Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection**. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.

EATON, T. J.; GASSON, M. J. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. **Appl Environ Microbiol**, Newark, USA, v. 67, n. 4, p. 1628-1635, apr. 2001.

ERMOLENKO, E. I. *et al.* Anti-Influenza Activity of Enterocin B In vitro and Protective Effect of Bacteriocinogenic Enterococcal Probiotic Strain on Influenza Infection in Mouse Model. **Probiotics Antimicrob Proteins**, New York, v. 11, n. 2, p. 705-712, jun. 2019.

EUZÉBY, J. P. List of prokaryotic names with standing in nomenclature: a folder available on the Internet. Genus *Enterococcus*. **Int J Syst Bacteriol**, London, 2019. Disponível em: <http://www.bacterio.net/enterococcus.html>. Acesso em: 8 dez. 2019.

FACKLAM, R. R.; CARVALHO, M. G.; TEIXEIRA, L. M. *Enterococcus*. In: GILMORE, M. S. *et al.* **The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance**. Washington, DC: ASM Press, 2002. p. 1-54.

FERNANDEZ, S. J.; YORIO, P.; CIANCIO, J. E. Diet composition of expanding breeding populations of the Magellanic Penguin. **Marine Biology Research**, [S.l.], v. 15, p. 84-96, 1 may 2019.

IORE, E.; VAN TYNE, D; GILMORE, M. S. Pathogenicity of Enterococci. **Microbiology Spectrum**, Washington, DC, 2 jul. 2019.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology**, Reading, UK, v. 155, n. 6, p. 1749-1757, jun. 2009.

FLEMING, L. E. *et al.* Oceans and Human Health: Emerging Public Health Risks in The Marine Environment. **Mar Poll Bull.**, Amsterdam, v. 53, n. 10-12, p. 545-60, sep. 2006.

FONSECA, V. S. S.; PETRY, M. V.; JOST, A. H. Diet of the magellanic penguin on the Coast of Rio Grande do Sul, Brazil. **Waterbirds**, De Leon Springs, USA, v. 24, n. 2, p. 290-293, 2001.

FRACALANZZA, S. A. P. *et al.* Antimicrobial resistance profiles of enterococci isolated from poultry meat and pasteurized milk in Rio de Janeiro, Brazil.

Memorial Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 102, n. 7, p. 853-859, nov. 2007.

FRANCIA, M. V. Completion of the Nucleotide Sequence of the *Enterococcus faecalis* Conjugative Virulence Plasmid pAD1 and Identification of a Second Transfer Origin. **Plasmid**, San Diego, USA, v. 46, n. 2, p. 117-127, oct. 2001.

FRANZ, C. *et al.* Enterococci as probiotics and their implications in food safety. **Int J Food Microbiol**, Amsterdam, v. 151, issue 2, p. 125-140, 2 dec. 2011.

FRANZ, C. M. A. P. *et al.* Enterococci in foods – a conundrum for food safety. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 88, n. 2-3, p. 105-122, dec. 2003.

FRAZZON, A. P. G.; MANN, M. B.; FRAZZON, J. Nontraditional Medicines for Treatment of Antibiotic Resistance. Antibiotic Drug Resistance. In: CAPELO-MARTÍNEZ, J. L.; IGREJAS, G. **Antibiotic drugs resistance**. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, 2019. p. 477-502.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PROTEÇÃO AMBIENTAL HENRIQUE LUIZ ROESSLER – FEPAM. **Programa de Gerenciamento Costeiro (GERCO/RS)**. Porto Alegre, c2019. Disponível em: <http://www.fepam.rs.gov.br/programas/gerco.asp>. Acesso em: 7 nov. 2019.

FUNDAÇÃO PROJETO TAMAR. **Tartaruga-de-pente**. Mata de São João, BA, c2011a. Disponível em: <http://www.tamar.org.br/tartaruga.php?cod=19>. Acesso em: 21 nov. 2019.

FUNDAÇÃO PROJETO TAMAR. **Tartaruga-verde ou tartaruga-aruanã**. Mata de São João, BA, c2011b. Disponível em: <https://www.tamar.org.br/tartaruga.php?cod=20>. Acesso em: 21 nov. 2019.

GACA, Anthony O.; LEMOS, José A. Adaptation to Adversity: the Intermingling of Stress Tolerance and Pathogenesis in Enterococci. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, DC, v. 83, n. 3, jul. 2019.

GALES, A. C. *et al.* Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals: participating in the SENTRY program (2005-2008). **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 13, n. 2, p. 90-98, 2009.

GALVEZ, A. *et al.* Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. **Critical reviews in biotechnology**, Philadelphia, v. 28, issue 2, p. 125-152, 10 oct. 2008.

GARCÍA-BORBOROGLU, P. *et al.* Chronic oil pollution harms magellanic penguins in the Southwest Atlantic. **Marine Pollution Bulletin**, London, v. 52, n. 2, p. 193-198, feb. 2006.

GARCIA-MIGURA, L. *et al.* Antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in Europe: The missing link between consumption and resistance in

veterinary medicine. **Veterinary Microbiology**, Ames, USA, v. 170, n. 1-2, p. 1-9, may 2014.

GARCÍA-SOLACHE M.; RICE, L. B. The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. **Clin Microbiol Rev**, Washington, DC, v. 32, n. 2, jan. 2019.

GHOMRASSI, H. *et al.* Evaluation of marine bacteriocinogenic enterococci strains with inhibitory activity against fish-pathogenic Gram-negative bacteria. **Dis. Aquat. Organ.**, Oldendorf Luhe, Germany, v. 108, n. 1, p. 31-43, 11 feb. 2016.

GIACOMETTI, A. *et al.* In-vitro activity and killing effect of polycationic peptides on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and interactions with clinically used antibiotics. **Diagn Microbiol Infect Dis**, Amsterdam, v. 38, n. 2, p. 115-8, oct, 2000.

GILMORE, M. S. *et al.* (eds.). **Enterococci**: from commensals to leading causes of drug resistant infection. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.

GILMORE, M. S; LEBRETON, F.; VAN SCHAIK, W. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. **Curr Opin Microbiol**, London, v. 16, n. 1, fev. 2013.

GIRAFFA, G. Enterococci in foods. **FEMS Microbiology**, Amsterdam, v. 26, n. 2, p.163-171, jun. 2002.

GIRAFFA, G. Functionality of enterococci in dairy products. **Int J Food Microbiol**, Amsterdam, v. 88, p. 215-222, 2003.

GOLD, O. G.; JORDAN, H. V.; VAN HOUTE, J. The prevalence of enterococci in the human mouth and their pathogenicity in animal models. **Archives of Oral Biology**, Oxforde, v. 20, n. 7, p. 473-477, 1975.

GOMES, B. C.; FRANCO, B. D. G. M.; MARTINIS, E. C. P. Dualistic aspects of *Enterococcus* spp. in foods. In: VILAS, A. M. (org.). **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**. Badajoz, Espanha: Formatex Research Center, 2010. p. 1119-1125. (Vol. 2).

GONZÁLEZ-TORRES, P. *et al.* Impact of homologous recombination on the evolution of prokaryotic core genomes. **mBio**, Washington, DC, v. 10, n. 1, e02494-1810:e02494-18, jan. 2019.

GRATIA, A. Sur un remarquable exemple d'antagonisme entre deux souches de colibacille. **Société de Biologie**, Paris, v. 12, p. 1040-1041, 1925.

GREGORY, K. *et al.* Survey of Biosynthetic Gene Clusters from Sequenced Myxobacteria Reveals Unexplored Biosynthetic Potential. **Microorganisms**, Basel, Switzerland, v. 7, n. 6, 24 jun. 2019.

GRISSA, I.; VERGNAUD, G.; POURCEL, C. The CRISPRdb database and tools to display CRISPRs and to generate dictionaries of spacers and repeats. **BMC Bioinformatics**, London, v. 8, article number 172, may 2007.

GRUBER, J.; KENNEDY, B. K. Microbiome and Longevity: Gut Microbes Send Signals to Host Mitochondria. **Cell**, Maryland Heights, v. 167, n. 7, p. 1168-1169, 15 jun. 2017.

GRUPO DE ESTUDOS DE MAMÍFEROS AQUÁTICOS DO RIO GRANDE DO SUL – GEMARS. **Lista das Espécies de Mamíferos Marinhos Registradas no Brasil**. Torres, RS, 2015. Disponível em: http://www.gemars.org.br/wp-content/uploads/2015/09/Lista-MM_BR_RS_GEMARS.pdf. Acesso em: 28 out. 2019.

GUASS, O. *et al.* Analysis of the microbial diversity in faecal material of the endangered blue whale, *Balaenoptera musculus*. **Anton. Leeuw. Int. J. G.**, Dordrecht, Netherlands, v. 109, n. 7, p. 1063-9, jul. 2016.

GUINET C.; JOUVENTIN, P.; GEORGES, J. Y. Long term population changes of fur seals *Arctocephalus gazella* and *Arctocephalus tropicalis* on subantarctic (Crozet) and subtropical (St. Paul and Amsterdam) Islands and their possible relationship to El Nino Southern Oscillation. **Antarct Sci**, Cambridge, v. 6, n. 4, p. 473-478, 1994.

HAMER, K. C.; SCHREIBER, E. A.; BURGER, J. Breeding Biology, Life Histories and Life History – Environment Interactions in Seabirds. In: SCHREIBER, E. A.; BURGER, J. (org.). **Biology of Marine Birds**. Boca Raton: CRC Press, 2002. p. 218-253.

HANCHI, H. *et al.* The Genus *Enterococcus*: Between Probiotic Potential and Safety Concerns: An Update. **Front. Microbiol.**, Basel, Switzerland, v. 9, 3 aug. 2018.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, Maryland Heights, v. 144, p. 646-674, 2011.

HANCOCK, L. E.; MURRAY, B. E.; SILLANPÄÄ, J. Enterococcal Cell Wall Components and Structures. In: GILMORE, M. S. *et al.* (eds.). **Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection**. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.

HAND, D. *et al.* Pyrosequencing the canine faecal microbiota: breadth and depth of biodiversity. **PloS One**, San Francisco, v. 8, n.1, 31 jan. 2013.

HASHEMPOUR-BALTORK, F. *et al.* Drug Resistance and the Prevention Strategies in Food Borne Bacteria: An Update Review. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, Tabriz, Iran, v. 9, n. 3, p. 335-347, aug. 2019.

HAYS, G. C. Sea turtles: A review of some key recent discoveries and remaining questions. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v. 356, issues 1-2, p. 1-7, 3 mar. 2008.

HE, Q. *et al.* Comparative genomic analysis of *Enterococcus faecalis*: insights into their environmental adaptations. **BMC Genomics**, London, v. 19, dec. 2018.

HEIDELBERG, K. B.; GILBERT, J. A.; JOINT, I. Marine genomics: at the interface of marine microbial ecology and biodiscovery. **Microbial Biotechnology**, Hoboken, v. 3, n. 5, p. 531-543, sep. 2010.

HENG, N. C. K. *et al.* The diversity of bacteriocins in Gram-positive bacteria. In: RILEY, M. A.; CHAVAN, M. A. (eds.) **Bacteriocins: ecology and evolution**. Springer: Berlín. p. 45-83.

HETZ, C.; BONO, M. R.; BARROS, L. F. Microcin E492, a channel-forming bacteriocin from *Klebsiella pneumoniae*, induces apoptosis in some human cell lines. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 99, n. 5, : p. 2696-2701, 2002, mar. 2002.

HICKCOX, R. P. *et al.* Global terrestrial distribution of penguins (Spheniscidae) and their conservation by protected areas. **Biodivers Conserv**, Switzerland, v. 28, p. 2861-2876, jun. 2019.

HIGASHIDE, T. *et al.* Endophthalmitis Caused by *Enterococcus mundtii*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v. 43, n. 3, p. 1475-1476, mar. 2005.

HIGUITA, N. I. A.; HUYCKE, M. M. Enterococcal Disease, Epidemiology, and Implications for Treatment. In: GILMORE M. S. *et al.*; (eds.). **Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection**. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.

HIRAYAMA, R. Oldest known sea turtle. **Nature**, London, v. 392, p.705-708, 16 apr. 1998.

HIRT, H. *et al.* Characterization of the pher- omone response of the *Enterococcus faecalis* conjugative plasmid pCF10: complete sequence and comparative analysis of the transcrip- tional and phenotypic responses of pCF10-containing cells to phero- mone induction. **J Bacteriol**, v. p. 1044-1054, 2005.

HOMAN, W. L. *et al.* Multilocus sequence typing scheme for *Enterococcus faecium*. **J Clin Microbiol**, Washington, DC, v. 40, n. 6, p. 1963-1971, jun. 2002.

HOSKIN, D. W.; RAMAMOORTHY, A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. **Biochimica et biophysica acta**, Amsterdam, v. 1778, p. 357-375, 2008.

HOWDEN, B. P. *et al.* Genomic insights to control the emergence of vancomycin-resistant enterococci. **mBio**, Washington, DC, v. 4, e00412-13, 2013.

HUESCAS, C. G. Y. *et al.* Frequency of Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPRs) in non-clinical *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains. **Braz. J. Biol.**, São Carlos, SP, v.79, n. 3, p. 460-465, sep. 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Atlas geográfico das zonas costeiras e oceânicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Diretoria de Geociências, 2011. 176 p. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv55263.pdf>. Acesso em: 5 nov. 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Atlas geográfico escolar /IBGE**. 8. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. 224 p.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBio. **Lobos e leões marinhos são registrados na região sul**. Brasília, DF, 10 ago. 2018. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/ultimas-noticias/20-geral/9884-lobos-e-leoes-marinhos-sao-registrados-na-regiao-sul>. Acesso em: 23 nov. 2019.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBio. **Parque no litoral gaúcho monitora animais marinhos**. Brasília, DF, 26 jan. 2016. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/ultimas-noticias/20-geral/7546-parque-no-litoral-gaucha-monitora-animais-marinhos>. Acesso em: 5 nov. 2019.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBIO. **Plano de ação nacional para a conservação das tartarugas marinhas**. Brasília, DF, 2017. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/plano-de-acao-nacional-lista/841-plano-de-acao-nacional-para-a-conservacao-das-tartarugas-marinhas>. Acesso em: 3 nov. 2019.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBio. **Portal da Biodiversidade**. Brasília, DF, 2019. Disponível em: https://portaldabiodiversidade.icmbio.gov.br/portal/?lang=pt_BR. Acesso em: 5 nov. 2019.

INSTITUTO DA CONSERVAÇÃO DA NATUREZA E DAS FLORESTAS – ICNF. **Chave de identificação de cetáceos**. Lisboa, 2019a. Disponível em: <http://www2.icnf.pt/portal/pn/biodiversidade/gestao-biodiv/roazes-do-sado/especies#Baleia-ana>. Acesso em: 5 nov. 2019.

INSTITUTO DA CONSERVAÇÃO DA NATUREZA E DAS FLORESTAS – ICNF. **Chave de identificação de cetáceos**. Lisboa, 2019b. Disponível em: <http://www2.icnf.pt/portal/pn/biodiversidade/gestao-biodiv/roazes-do-sado/especies#Grampo>. Acesso em: 5 nov. 2019.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE – IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Gland, Switzerland, c2019. Disponível em:

<https://www.iucnredlist.org/search?query=MARINE%20TURTLES&searchType=species>. Acesso em: 1 nov. 2019.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE – IUCN.

Worrying declines for world's seabirds. Gland, Switzerland, 9 mar. 2012. <https://www.iucn.org/content/worrying-declines-world's-seabirds-0>. Acesso em: 10 nov. 2019.

ISLAM, S.; TANAKA, M. Impacts of Pollution on Coastal and Marine Ecosystems Including Coastal and Marine Fisheries and Approach for Management: A Review and Synthesis. **Mar Poll Bull.**, Amsterdam, v. 48, p. 624-649, 2004.

JEFFERSON, T. A. *et al.* Global distribution of Risso's dolphin *Grampus griseus*: a review and critical evaluation. **Mammal Review**, Bristol, v. 44, n. 1, p. 56-68, 2014.

JENNES, W.; DICKS, L. M. T.; VERWOERD, D. J. Enterocin 012, a bacteriocin produced by *Enterococcus gallinarum* isolated from the intestinal tract of ostrich. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, p. 349-357, 2000.

JIMÉNEZ, E. *et al.* Antibiotic resistance, virulence determinants and production of biogenic amines among enterococci from ovine, feline, canine, porcine and human Milk. **BMC Microbiology**, London, v.13, n. 288, 2013.

JOHANSSON, D.; RASMUSSEN, M. Virulence factors in isolates of *Enterococcus faecalis* from infective endocarditis and from the normal flora. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 55, p. 28-31, feb. 2013.

JOHNSON, S. P.; NOLAN, S.; GULLAND, F. M. Antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from pinnipeds stranded in central and northern California. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Washington, DC, v. 29, n. 3, p. 288-294, 1998.

JOHNSTON, L. M.; JAYKUS, L. A. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from produce. *Appl. Environ. Microbiol.*, Newark, USA, v. 70, n. 5, p. 3133-3137, may 2004.

KALINA, A. P. The position of enterococci in the system of microorganisms. **Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol**, Moscow, v. 47, n. 6, p. 20-21, jun. 1970.

KATYAL, I. *et al.* CRISPRs of *Enterococcus faecalis* and *E. hirae* isolates from pig feces have species-specific repeats but share some common spacer sequences. **Microbial Ecology**, New York, v. 66, n. 1, p. 182-188, jul. 2013.

KAUR, S.; KAUR, S. Bacteriocins as Potential Anticancer Agents. **Frontiers in pharmacology**, Switzerland, v. 6, n. 272, 2015.

KIM, E. B.; MARCO, M. L. Nonclinical and clinical *Enterococcus faecium* strains, but not *Enterococcus faecalis* strains, have distinct structural and functional genomic features. **Appl Environ Microbiol.**, Newark, USA, v. 80. N. 1, p. 154-65, 2014.

KISZKA, J.; BRAULIK, G. ***Grampus griseus***. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T9461A50356660. Cambridge, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T9461A50356660.en>. Acesso em: 23 nov. 2019.

KLEIN, G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastrointestinal tract. **Int J Food Microbiol**, Amsterdam, v. 88, issues 2-3, p. 123-131, 1 dec. 2003.

KOCH, S. *et al.* Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. **Vaccine**, Amsterdam, v. 22, n. 7, p. 822-830, 17 feb. 2004.

KOSTIC, A. D.; HOWITT, M. R.; GARRETT, W. S. Exploring host–microbiota interactions in animal models and humans. **Genes Dev.**, New York, v. 1, n. 27, p. 701-718, apr. 2013.

KRISTICH, C. J.; RICE, L. B.; ARIAS, C. A. Enterococcal Infection – Treatment and Antibiotic Resistance. In: GILMORE, M. S. *et al.* (eds.) **Enterococci**: from commensals to leading causes of drug resistant infection. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.

KRZYWINSKI, M. *et al.* Circos: an information aesthetic for comparative genomics. **Genome research**, Cold Spring Harbor Lab, v. 19, n. 9, p. 1639-1645, 2009.

KRZYWINSKI, M. *et al.* Getting into visualization of large biological data sets. **BioVis2012**, <http://mkweb.bcgsc.ca/biovis2012/>, retrieved November, v. 30, 2014.

LAGOS, R. Antibacterial and antitumorigenic properties of microcin E492, a pore-forming bacteriocin. **Current pharmaceutical biotechnology**, USA, v. 10, p. 74-85, 2009.

LAM, M. M. *et al.* Comparative Analysis of the First Complete *Enterococcus faecium* Genome. **Journal of Bacteriology**, Washington, DC, v. 194, p. 2334-2341, 2012.

LAUKOVA, A.; CZIKKOVA, S. The use of enterocin CCM 4231 in soy milk to control the growth of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. **J Appl Microbiol**, Oxford, v. 87, p. 182-186, 1999.

LAUKOVA, A.; KANDRICKAKOVA, A.; SCERBOVA J. Use of bacteriocin-producing, probiotic strain *Enterococcus faecium* AL41 to control intestinal microbiota in farm ostriches. **Letters in applied microbiology**, England, v. 60, n. 6, p. 531-535, jun. 2015.

LAYTON, B. A. *et al.* *Enterococcus* species distribution among human and animal hosts using multiplex PCR. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 109, n. 2, p. 539-547, aug. 2010.

LEBRETON, F. *et al.* Emergence of Epidemic Multidrug-Resistant *Enterococcus faecium* from Animal and Commensal Strains. **mBio**, Washington, DC, v. 4, n. 4, p. 1-10, aug. 2013.

LEBRETON, F. *et al.* Tracing the Enterococci from Paleozoic Origins to the Hospital. **Cell**, Maryland Heights, v. 169, n. 5, p. 849-861, 18 may 2017.

LEBRETON, F.; WILLEMS, R. J. L.; GILMORE, M. S. *Enterococcus* Diversity, Origins in Nature and Gut Colonization. In: GILMORE M. S. *et al.* (eds). **Enterococci**: from commensals to leading causes of drug resistant infection. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.

LEE, M. S. Y. Palaeontology: turtles in transition. **Current Biology**, Cambridge, USA, v. 23, n. 12, p. R513-R515, 2013.

LEONG, K. W. C. *et al.* Emergence of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* at an Australian Hospital: A Whole Genome Sequencing Analysis. **Sci Rep**, London, v. 8, n. 1, 19 apr. 2018.

LEPAGE, E. *et al.* Comparative genomic hybridization analysis of *Enterococcus faecalis*: identification of genes absent from food strains. **Journal of Bacteriology**, Washington, DC, v. 188, n. 19, p. 6858-6868, 2006.

LEVESQUE, S. *et al.* Enterococcus [sic] pallens as a potential novel human pathogen: three cases of spontaneous bacterial peritonitis. **JMM Case Rep**, London, v. 3, n. 1, 3:e005024, 5 feb. 2016.

LEY, R. E. *et al.* Evolution of Mammals and Their Gut Microbes. **Science**, New York, v. 320, n. 5883, p. 1647-1651, 20 jun, 2018.

LI, C. *et al.* Two Antarctic penguin genomes reveal insights into their evolutionary history and molecular changes related to the Antarctic environment. **GigaScience**, Oxford, v. 3, n. 27, 2014.

LI, P. *et al.* Investigation of Antimicrobial Resistance in Escherichia coli and Enterococci Isolated from Tibetan Pigs. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 4, e95623, 2014.

LISLE, J. T. *et al.* Occurrence of microbial indicators and *Clostridium perfringens* in wastewater, water column samples, sediments, drinking water, and weddell seal feces collected at McMurdo Station, Antarctica. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 70, n. 12, p. 7269-7276, dec. 2004.

LOCKWOOD, S. K.; CHOVAN, J. L.; GAYDOS, J. K. Aerobic bacterial isolations from harbor seals (*Phoca vitulina*) stranded in Washington: 1992-2003. **Journal Zoo Wildlife Medicine**, Washington, DC, v. 37, n. 3, p. 281-291, sep. 2006.

LORENZO, V. Isolation and characterization of microcin E492 from *Klebsiella pneumoniae*. **Archives of microbiology**, Germany, v. 139, p. 72-75, 1984.

LORENZO, V.; PUGSLEY, A. P. Microcin E492, a low-molecular-weight peptide antibiotic which causes depolarization of the *Escherichia coli* cytoplasmic membrane. **Antimicrob Agents Chemother**, Washington, DC, v. 27, p. 666-669, 1985.

LYSON, T. R. *et al.* Evolutionary Origin of the turtle shell. **Current Biology**, Cambridge, USA, v. 23, p. 1113-1119, 2013.

LYTSY, B. *et al.* Time to review the gold standard for genotyping vancomycin-resistant enterococci in epidemiology: comparing whole-genome sequencing with PFGE and MLST in three suspected outbreaks in Sweden during 2013-2015. **Infect Genet Evol**, Amsterdam, v. 54, p. 74-80, oct. 2017.

MACCALLUM, W. G.; HASTINGS, T. W. A case of acute endocarditis caused by *Micrococcus zymogenes* (nov. spec.), with a description of the microorganism. **J Exp Med**, New York, v. 4, p. 521-534, 1899.

MÄDER, A. **Conservação de Aves Migratórias Neárticas no Brasil**: Litoral Norte do Rio Grande do Sul. Belém: Conservação Internacional, 2011.

MÄDER, A. **Efeitos da antropização da Zona Costeira sobre assembleias de aves**. 2010. 75 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade e Manejo de Vida Silvestre) – Programa de Pós-Graduação em Biologia da Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, São Leopoldo, 2010.

MÄDER, A.; SANDER, M.; CASA JR., G. Ciclo sazonal de mortalidade do pinguim-de-magalhães, *Spheniscus magellanicus* influenciado por fatores antrópicos e climáticos na costa do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Ornitologia**, Belém, v. 18, n. 3, p. 228-233, set. 2010.

MAGIORAKOS, A. P. *et al.* Multidrug-resistant, extensively, drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clin. Microbiol. Infect.**, Stockholm, v. 18, n. 3, p. 268-281, mar. 2012.

MANERO, A.; BLANCH, A. R. Identification of *Enterococcus* spp. with a Biochemical Key. **Appl. Environ. Microbiol.**, Newark, USA, v. 65, n. 10, p. 4425-4430, oct. 1999.

MANSON, J. M.; HANCOCK, L. E.; GILMORE, M. S. Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits. **Proc Natl Acad Sci**, Washington, DC, v. 107, n. 27, p. 12269-12274, 6 jul. 2010.

MARACCINI, P. A.; FERGUSON, D. M.; BOEHM, A. B. Diurnal variation in *Enterococcus* species composition in polluted ocean water and a potential Role for the Enterococcal carotenoid in protection against photoinactivation. **Appl. Environ. Microbiol.**, Newark, USA, v. 78, n. 2, p. 305-310, jan. 2012.

MARCELINO, V. R. *et al.* Meta-transcriptomics reveals a diverse antibiotic resistance gene pool in avian microbiomes. **BMC Biology**, London, 17, article n. 31, p. 1-11, 8 apr. 2019.

- MARCHESI, J. R.; RAVEL, J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. **Microbiome**, London, v. 3, article 31, 30 jul. 2015.
- MARINHO, C. *et al.* Echinoderms from Azores islands: an unexpected source of antibiotic resistant *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* isolates. **Marine Pollution Bulletin**, London, v. 69, n. 1-2, p. 122-127, 14 apr. 2013.
- MARRA, A. *et al.* Enterococcal virulence determinants may be involved in resistance to clinical therapy. **Diagnostic Microbiology**. New York, v. 58, n. 1, p. 59-65, may 2007.
- MÁRQUEZ M, R. **FAO species catalogue**. Sea turtles of the world. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date. Rome: FAO, 1990. 81 p. (FAO Fisheries Synopsis n. 125, v. 11).
- MARRAFFINI, L. A.; SONTHEIMER, E. J. CRISPR interference limits horizontal gene transfer in staphylococci by targeting DNA. **Science**, New York, v. 322, issue 5909, p. 1843-5, 19 dec. 2008.
- MARTIN, J. D.; MUNDT, J. O. Enterococci in insects. **J. Appl. Microbiol.**, Oxford, v. 24, n. 4, p. 575-580, 1972.
- MCBRIDE, S. M., *et al.* Genetic Diversity among *Enterococcus faecalis*. **PLoS One**, San Francisco, v. 2, n. 7, 4 jul. 2007.
- MCBRIDE, S. M. *et al.* Genetic variation and evolution of the pathogenicity island of *Enterococcus faecalis*. **Journal of Bacteriology**, Washington, DC, v. 191, n. 10, p. 3392-3402, 2009.
- MEDEIROS, A. W. *et al.* Characterisation of the faecal bacterial community of wild young South American (Arctocephalus australis) and Subantarctic fur seals (Arctocephalus tropicalis). **FEMS Microbiology Ecology**, Netherlands, v. 92, n. 3, mar. 2016.
- MEDEIROS, A. W. *et al.* *Enterococcus* species diversity in fecal samples of wild marine species by real-time PCR. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v. 63, n. 2, p. 129-136, feb. 2017.
- MEDEIROS, A. W. *et al.* Molecular detection of virulence factors among food and clinical *Enterococcus faecalis* strains in South Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 45, n. 1, apr. 2014.
- MICHELS-SOUZA, M. A. *et al.* Pinguins-de-magalhães (*Spheniscus Magellanicus* Forster, 1781) contaminados por petróleo encontrados na Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Ci. Biol. Saúde**, Ponta Grossa, v. 16, n. 1, p. 29-34, jan-jun. 2010.
- MILMANN, L. *et al.* Feeding ecology of the common bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, in southern Brazil: analyzing its prey and the potential overlap with fisheries. **Brazilian Journal of Oceanography**, Universidade de São Paulo, São Paulo, v. 64, n. 4, oct./dec. 2016.

MIRANDA, Adriana Vieira de *et al.* **Guia de Ilustrado de Identificação de Cetáceos e Sirênios do Brasil**. Brasília, DF: ICMBio: CMA, 2019. 70 p.

MONTEIRO-FILHO, E. L. *et al.* **Guia ilustrado de Mamíferos Marinhos do Brasil**. Cananéia, SP: Instituto de Pesquisas Cananéia – IPeC, 2013.

MORAES, P. M. *et al.* Bacteriocinogenic and virulence potential of *Enterococcus* isolates obtained from raw milk and cheese. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 113, n. 2, p. 318-328, dec. 2012.

MOREIRA, L. M. P. **Ecologia reprodutiva e estimativa de ninhos da tartaruga verde-auranã – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) (Testudines, reptilia) na ilha da Trindade – Espírito Santo – Brasil**. 2003. 63 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, 2003.

MORTIMER, J.A.; DONNELLY, M. (IUCN SSC Marine Turtle Specialist Group) 2008. ***Eretmochelys imbricata***. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T8005A12881238. Cambridge, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T8005A12881238.en>. Acesso em: 21 nov. 2019.

MÜLLER, A.; BARROS, M. P. Diversidade e abundância de aves costeiras em um trecho do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Biotemas**, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, v. 26, n. 3, p. 163-175, 2013.

MUNDT, J. O. Occurrence of Enterococci: Bud, Blossom, and soil studies. **J. Appl. Microbiol.**, Oxford, v. 9, n. 6, p. 541-544, 1961.

MUNDT, J. O. Occurrence of Enterococci in animals in a wild environment. **J. Appl. Microbiol.**, Oxford, v. 11, n. 2, p. 136-140, 1963a.

MUNDT, J. O. Occurrence of Enterococci on plants in a wild environment. **J. Appl. Microbiol.**, Oxford, v. 11, n. 2, p. 141-144, 1963b.

MUNDY, L. M.; SAHM, D. F.; GILMORE, M. Relationships between Enterococcal virulence and antimicrobial resistance. **Clin. Microbiol. Rev.**, Washington DC, v. 13, n. 4, p. 513-522, oct. 2000.

MURRAY, B. E. The life and times of the *Enterococcus*. **Clin Microbiol Ver**, Washington, DC, v. 3, n. 1, p. 46-65, jan. 1990.

NACHTIGALL, G. *et al.* Diversidade e perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Enterococcus* sp. isolados das águas do Arroio Dilúvio – Porto Alegre, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 235-241, abr./jun. 2013.

NAKASHIMA, S. B. **Dieta da Tartaruga-Verde *Chelonia Mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) no Litoral Norte do Rio Grande do Sul**. 2008. 38 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

NELSON, T. M.; ROGERS, T. L.; BROWN, M. V. The Gut Bacterial Community of Mammals from Marine and Terrestrial Habitats. **PloS One**, San Francisco, v. 8, n. 12, 30 dec. 2013.

NES, I. F.; DIEP, D. B.; IKE, Y. Enterococcal bacteriocins and antimicrobial proteins that contribute to niche Control. In: GILMORE M. S. *et al.* (eds.). **Enterococci**: from commensals to leading causes of drug resistant infection. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.

NEUMANN. B. *et al.* A core genome multilocus sequence typing scheme for *Enterococcus faecalis*. **J Clin Microbiol**, Washington, DC, v; 57, e01686-18.

NEWMAN, D. Screening and identification of novel biologically active natural Compounds. **F1000Research**, London, v. 6, 5 jun. 2017.

NÚCLEO DE EDUCAÇÃO E MONITORAMENTO AMBIENTAL – NEMA. Rio Grande, RS, 2019a. Disponível em: <https://www.nema-rs.org.br>. Acesso em: 5 nov. 2019.

NÚCLEO DE EDUCAÇÃO E MONITORAMENTO AMBIENTAL – NEMA. Rio Grande, RS, 2019b. **Projeto Pinípedes do Sul**. Disponível em: https://www.pinipedesdosul.com.br/index.php?p=nossas_especies. Acesso em: 12 nov. 2019.

OBSERVATÓRIO MARINHO DE ESPOSENDE – OMARE. **Grampus griseus (G. Cuvier, 1812)**. Esposende, Portugal, 2019. Disponível em: <http://www.omare.pt/pt/especie/grampus-griseus/>. Acesso em: 10 nov. 2019.

OCEANA. **Lobo-marinho-sul-americano**. Brasília, DF, 2019. Disponível em: <https://brasil.oceana.org/pt-br/marine-life/mamiferos/lobo-marinho-sul-americano>. Acesso em: 10 nov. 2019.

OKUDA, K. *et al.* Effects of Bacteriocins on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilm. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, DC, v. 57, n. 11, p. 5572-579, nov. 2013.

OLIVEIRA, A. J. F. C.; PINHATA, J. M. W. Antimicrobial Resistance and Species Composition of *Enterococcus* spp. Isolated from Waters and Sands of Marine Recreational Beaches in Southeastern Brazil. **Water Res.**, London, v. 42, n. 8-9, p. 2242-50, apr. 2008.

OLIVEIRA, L. R. Carnívoros Marinhos. In: WEBER, M. M.; ROMAN, C.; CÁCERES, N. C. (orgs.). **Mamíferos do Rio Grande do Sul**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2013. p. 405-429.

OLSHANNIKOVA, E. *et al.* Visualizing big data with augmented and virtual reality: challenges and research agenda. **Journal of Big Data**, Amsterdam, v. 2, n. 1, p. 22, 2015.

OSTROLENK, M.; HUNTER, A. C. The distribution of enteric Streptococci. **J. Bacteriol.**, [S.l.], v. 51, n. 6, p. 735-741, 1946.

PALMER, K. *et al.* Comparative genomics of enterococci: Variation in *Enterococcus faecalis*, clade structure in *E. faecium*, and defining characteristics of *E. gallinarum* and *E. casseliflavus*. **mBio**, Washington, DC, v. 3, e00318-11, 2012.

PALMER, K. *et al.* Enterococcal Genomics. In: GILMORE, M. S. *et al.* (eds.). **Enterococci**: from commensals to leading causes of drug resistant infection. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.

PALMER, K.; GILMORE, M. Multidrug-Resistant Enterococci Lack CRISPR-cas. **mBio**, Washington, v. 1, n. 4, e00227-10, oct. 2010.

PAULSEN, I. T. *et al.* Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. **Science**, New York, v. 299, n. 5615, p. 2071-4, 2003.

PEREZ, R. H.; ZENDO, T.; SONOMOTO, K. Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. **Microbial cell factories**, London, v. 13, Suppl 1, S3, p. 1-13, 29 aug. 2014.

PERRIN, W. F. **Grampus griseus (G. Cuvier, 1812)**. Flandres: World Register of Marine Species, 2019. Disponível em: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=137098>. Acesso em: 11 nov. 2019.

PETRY, M. V.; SCHERER, J. F. M.; SCHERER, A. L. Ocorrência, Alimentação e Impactos Antrópicos de Aves Marinhas nas Praias do Litoral do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ornitologia**, Rio Grande, v. 20, n. 1, p. 65-70, 2012.

PINHOLT, M. *et al.* Multiple hospital outbreaks of vanA *Enterococcus faecium* in Denmark, 2012–13, investigated by WGS, MLST and PFGE. **J Antimicrob Chemother**, Oxford, v. 70, p. 2474-2482, 2015.

PINTO, M. B. L. C.; SICILIANO, S.; BENEDITTO, A. P. M. D. Stomach contents of the magellanic penguin *Spheniscus Magellanicus* from the northern distribution limit on the Atlantic Coast of Brazil. **Marine Ornithology**, Rondebosch, South Africa, v. 35, p. 77-78, 2007.

POETA, P. *et al.* Characterization of antibiotic resistance genes and virulence factors in faecal Enterococci of wild animals in Portugal. **J. Vet. Med. B.**, Berlin; Cambridge, v. 52, n. 9, p. 396-402, 2005.

PRICE, V. J. *et al.* *Enterococcus faecalis* CRISPR-Cas is a robust barrier to conjugative antibiotic resistance dissemination in the murine intestine. **mSphere**, Washington, DC, v. 4, n. 4, e00464-19, jul. 2019.

PRICHULA, J. *et al.* Complete Genome Sequence of *Enterococcus faecalis* Strain P8-1 Isolated from Wild Magellanic Penguin (*Spheniscus magellanicus*) Feces on the South Coast of Brazil. **Genome Announcements**, Washington, DC, v. 4, n. 1, jan./feb. 2016a.

PRICHULA, J. *et al.* Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e diversidade das espécies de enterococos isolados de leite cru de búfalas no Sul do Brasil. **R. Bras. Ci. Vet.**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 2, p. 104-109, abr./jun. 2013.

PRICHULA J. *et al.* Resistance to antimicrobial agents among enterococci isolated from fecal samples of wild marine species in the southern coast of Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, London, v. 105, n. 1, p. 51-57, 15 apr. 2016b.

PÜTZ, K. *et al.* Winter migration of magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) from the southern most distributional range. **Mar. Biol.**, [S.l.], v. 152, p. 1227-1235, 2007.

QIN, X. *et al.* Complete genome sequence of *Enterococcus faecium* strain TX16 and comparative genomic analysis of *Enterococcus faecium* genomes. **BMC Microbiology**, London, v. 12, n. 135, 2012.

RAHMAN, M. H. *et al.* Diversity of tetracycline-resistant bacteria and resistance gene tet(M) in fecal microbial community of Adélie penguin in Antarctica. **Polar Biology**, Germany, v. 38, issue 10, p. 1775-1781, oct. 2015.

RAMSEY, M.; HARTKE, A.; HUYCKE, M. The physiology and metabolism of Enterococci. In: GILMORE, M. S. *et al.* (eds). **Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection**. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.

RAVEN, K. E. *et al.* A decade of genomic history for healthcare-associated *Enterococcus faecium* in the United Kingdom and Ireland. **Genome Research**, Woodbury, USA, v. 26, p. 1388-1396, 2016a.

RAVEN, K. E. *et al.* Genome-based characterization of hospital-adapted *Enterococcus faecalis* lineages. **Nat Microbiol.**, London, v. 1, n. 15033, 2016b.

REEN, F. J. *et al.* Emerging concepts promising new horizons for marine biodiscovery and synthetic biology. **Marine Drugs**, Basel, Switzerland, v. 13, n. 5, p. 2924-2954, 13 may 2015.

RIEDL, B. *et al.* In search of a novel target – phosphatidylserine exposed by non-apoptotic tumor cells and metastases of malignancies with poor treatment efficacy. **Biochimica et biophysica acta**, Amsterdam, v. 1808, p. 2638-2645, 2011.

ROBERT, S. **Information visualization-design for interaction**. London: UK Pearson Educ, 2007.

ROCHA-CAMPOS, C. C.; CÂMARA, I. G. (org.). **Plano de ação nacional para conservação dos mamíferos aquáticos: grandes cetáceos e pinípedes**. Brasília, DF: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2011. 156 p. (Série Espécies Ameaçadas, n. 14).

ROMANO, G. *et al.* Marine microorganisms as a promising and sustainable source of bioactive molecules. **Marine Environmental Research**, Oxford, v. 128, p. 58-69, jul. 2017.

ROPERT-COUDERT, Y. *et al.* Happy Feet in a Hostile World? The Future of Penguins Depends on Proactive Management of Current and Expected Threats. **Front. Mar. Sci.**, [online], Lausanne, v. 6, n. 248, may 2019.

ROSE, J. M. *et al.* Occurrence and patterns of antibiotic resistance in vertebrates off the northeastern United States coast. **FEMS Microbiology Ecology**, Netherlands, v. 67, n. 3, p. 421-431, mar. 2009.

ROYAL SOCIETY (Great Britain). **Future ocean resources**: metal-rich minerals and genetics: evidence pack. London, 2017. ISBN 9781782522607.

RUOPPOLO, V. *et al.* Survival and movements of Magellanic penguins rehabilitated from oil fouling along the coast of South America, 2000 –2010. **Marine Pollution Bulletin**, London, v. 64, n. 7, p. 1309- 1317, Jul. 2012.

RUZAUSKAS, M. *et al.* Antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from livestock in Lithuania. **Veterinarski Arhiv**, Zagreb, Croatia, v. 79, n. 5, p. 439-449, 2009.

SALVUCCI, E. *et al.* Combined effect of synthetic enterocin CRL35 with cell wall, membrane-acting antibiotics and muranolytic enzymes against *Listeria* cells. **Letters in applied microbiology**, v. 51, n. 12, p. 191-195, aug. 2010

SANTESTEVAN, N. A. *et al.* Antimicrobial resistance and virulence factor gene profiles of *Enterococcus* spp. isolates from wild *Arctocephalus australis* (South American fur seal) and *Arctocephalus tropicalis* (Subantarctic fur seal). **World J Microbiol Biotechnol**, Amsterdam, v. 31, n. 12, p. 1935-46, 2015.

SAWA, N. *et al.* Isolation and characterization of enterocin W, a novel two-peptide lantibiotic produced by *Enterococcus faecalis* NKR-4-1. **Appl Environ Microbiol**, Newark, USA, v. 78, n. 3, p. 900-903, jan. 2012.

SCHLEIFER, K. H.; KILPPER-BALZ, R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. **Int J Syst Evol Microbiol**, London, v. 34, n. 1, p. 31-34, jan. 1984.

SCHWEIZER, F. Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity. **European journal of pharmacology**, Amsterdam, v. 625, p. 190-194, 2009.

SCOTT, K. P. *et al.* The influence of diet on the microbiota. **Pharmacological Res.**, United States, v. 69, n. 1, p. 52-60, mar. 2011.

SELLECK, E. F.; VAN TYNE, D.; GILMORE, M. S. Pathogenicity of Enterococci. **Microbiol Spectrum**, v. 7, n. 4, jul. 2019.

SEMINOFF, J. A. ***Chelonia mydas***. The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T4615A11037468. Southwest Fisheries Science Center, U.S, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T4615A11037468.en>. Acesso em: 21 nov. 2019.

SETTANNI, L.; CORSETTI, A. Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. **Int J Food Microbiol**, Amsterdam, v. 121, p. 123-138, 2008.

SHANKAR, N.; BAGHDAYAN, A. S.; GILMORE, M. S. Modulation of virulence within a pathogenicity island in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. **Nature**, London, v. 417, p. 746–750.

SHANKAR, N. *et al.* Enterococcal cytolysin; activities and association with other virulence traits in a pathogenicity island. **J. Med. Microbiol**, Reading, UK, v. 293, p. 609-618, 2004.

SHEPARD, B. D.; GILMORE, M. S. Antibiotic-resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. **Microbes Infect**, Amsterdam, v. 4, issue 2, p. 215-224, feb. 2002a.

SHEPARD, B. D.; GILMORE, M. S. Differential expression of virulence-related genes in *Enterococcus faecalis* in response to biological cues in serum and urine. **Infection and immunity**, Washington, DC, v. 70, n. 8, p. 4344-4352, aug. 2002b.

SHERMAN, J. M. The streptococci. **Bacteriol Rev**, Washington, v. 1, n. 1, p. 3-97, dec. 1937.

SILVA, K. G. **Projeto Mamíferos Marinhos no Litoral do Rio Grande do Sul**. Rio Grande: NEMA, 2014. Disponível em: <https://nema-rs.org.br/files/projetos/3-mamiferos.pdf>. Acesso em: 17 nov. 2019.

SILVA, P. M. **Conteúdo gastrointestinal do pinguim-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) no Litoral do Rio Grande do Sul, Brasil**: análise dos itens alimentares e resíduos poliméricos. 2013. 68 f. (Trabalho de Conclusão do Curso em Ciências Biológicas e Biologia Costeira e Marinha) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Imbé, 2013.

SMITH, D. *et al.* Discovery pipelines for marine resources: an ocean of opportunity for biotechnology? **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Amsterdam, v. 35, n. 107, 2 jul. 2019.

SOK, M.; SENTJURC. M.; SCHARA, M. Membrane fluidity characteristics of human lung cancer. **Cancer letters**, Netherlands, v. 139, v. 139, issue 2, p. 215-220, 24 may 1999.

SOLER, J. J. *et al.* Antibiotic-producing bacteria as a possible defence of birds against pathogenic microorganisms. **The Open Ornithology Journal**, Hilversum, Netherlands, v. 3, p. 93-100, 2010.

SPENCE, R. J. *et al.* Draft Genome Sequence of *Enterococcus faecalis* Strain PF3, Isolated from Adelie Penguin Feces from Antarctica. **Genome Announcements**, Washington, DC, v. 2, n. 1, jan./feb. 2014.

STECHER, B.; HARDT, W. D. The role of microbiota in infections disease. **Trends Microbiol.**, Netherlands, v. 16, n. 3, p. 107-114, 2008.

STEWART, J. R. *et al.* Survey of antibiotic-resistant bacteria isolated from bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* in the southeastern USA. **Diseases of Aquatic Organisms.**, Oldendorf/Luhe, Germany, v. 108, n. 2, p. 91-102, feb. 2014.

SUBMUTH, S. D. *et al.* Aggregation substance promotes adherence, phagocytosis, and intracellular survival of *Enterococcus faecalis* within human macrophages and suppresses respiratory burst. **Infect. Immun.**, Washington DC, v. 68, n. 9, p. 4900-4906, 2000.

SURETTE, M. D.; WRIGHT, G. D. Lessons from the Environmental Antibiotic Resistome. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, USA, v. 71, p. 309-329, sep. 2017.

SVEC, P. *et al.* *Enterococcus aquamarinus* sp. nov. isolated from sea water. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, Reading, UK, v. 55, n. 5, p. 2183-2187, sep. 2005.

SVEC, P.; SEDLACEK, I. Occurrence of *Enterococcus* spp. in Waters. **Folia Microbiol.**, New York, v. 44, n. 1, p. 3-10, 1999.

TEIXEIRA, L. M. *et al.* *Enterococcus*. In: VERSALOVIC, J. *et al.* (eds). **Manual of clinical microbiology**. 10th ed. Washington, DC: ASM Press, 2011. p 350-364. (Vol. 2).

TEIXEIRA, L. M.; MERQUIOR, V. L. C. *Enterococcus*. In: FILIPPIS, I.; MCKEE, L. M. (eds). **Molecular typing in bacterial infections**. New York: Humana Press, 2013. p. 17-26.

THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY. **Arctocephalus australis (South American fur seal)**. Yarmouth Port, MA, 2019a. Disponível em: <https://www.marinemammalscience.org/facts/arctocephalus-australis/>. Acesso em: 10 nov. 2019. A

THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY. **Balaenoptera acutorostrata (Common minke whale)**. Yarmouth Port, MA, 2019b. Disponível em: <https://www.marinemammalscience.org/facts/balaenoptera-acutorostrata/>. Acesso em: 10 nov. 2019.

THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY. **Grampus griseus (Risso's dolphin, gray grampus)**. Yarmouth Port, MA, 2019c. Disponível em: <https://www.marinemammalscience.org/facts/grampus-griseus/>. Acesso em: 15 nov. 2019.

THIERCELIN, M. E. Morphologie et modes de reproduction de l'enterocoque. **C R Seances Soc Biol Fil**, Paris, v. 11, p. 551-553, 1899.

THIERCELIN, M. E.; JOUHAUD, L. Sur un diplococque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogene. **C R Seances Soc Biol Fil.**, Paris, v. 5, p. 269-271, 1899.

THORNTON, S. M.; NOLAN, S.; GULLAND, F. M. Bacterial isolates from California sea lions (*Zalophus californianus*), harbor seals (*Phoca vitulina*), and northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*) admitted to a rehabilitation center along the central California coast, 1994-1995. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Washington, DC, v. 29, n. 2, p. 171-176, 1998.

TODOROV, S. D. *et al.* An antibacterial and antiviral peptide produced by *Enterococcus mundtii* ST4V isolated from soya beans. **International journal of antimicrobial agents**, Amsterdam, v. 25, n. 6, p. 508-513, jun. 2005.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS. Fauna Digital do Rio Grande do Sul. **Golfinho-de-risso (*Grampus griseus*)**. Porto Alegre, c2019. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/faunadigitalrs/mamiferos/ordem-cetartiodactyla/familia-delphinidae/golfinho-de-risso-grampus-griseus/>. Acesso em: 10 nov. 2019.

UTSUGI, T. *et al.* Elevated expression of phosphatidylserine in the outer membrane leaflet of human tumor cells and recognition by activated human blood monocytes. **Cancer research**, Philadelphia, v. 51, n. 11, p. 3062-3066, jun. 1991.

VADEN, R. M. *et al.* FUSION-guided hypothesis development leads to the identification of N6, N6-dimethyladenosine, a marine- derived AKT pathway inhibitor. **Marine Drugs**, Basel, Switzerland, v. 15, 2017.

VAN HAL, S. J. *et al.* Evolutionary dynamics of *Enterococcus faecium* reveals complex genomic relationships between isolates with independent emergence of vancomycin resistance. **Microb Genomics**, London, v. 2, n. 1, jan. 2016.

VANSTREELS, R. E. T. *et al.* **Manual de campo para a colheita e armazenamento de informações e amostras biológicas provenientes de pinguins-de- Magalhães (*Spheniscus magellanicus*)**. 2. ed. São Paulo: Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres, 2012. 62 p.

WACHSMAN, M. B. *et al.* Antiviral activity of enterocin CRL35 against herpesviruses. **International journal of antimicrobial agents**, Amsterdam, v. 12, n. 4, p. 293-9, aug. 1999.

WACHSMAN, M. B. *et al.* Enterocin CRL35 inhibits late stages of HSV-1 and HSV-2 replication in vitro. **Antiviral research**, Amsterdam, v. 58, n. 1, p. 17-24, mar. 2013.

WILLEMS, F. *et al.* Emergence of epidemic multidrug-resistant *Enterococcus faecium* from animal and commensal strains. **mBio**, Washington, DC, v. 4, n. 4, aug. 2013.

WILLEMS, R. J. L. *et al.* Restricted gene flow among hospital subpopulations of *Enterococcus faecium*. **mBio**, Washington, DC, v. 3, n. 4, e00151-12, 17 jul. 2012.

WILLYARD, C. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. **Nature**, London, v. 543, n. 7643, p. 15, 28 feb. 2017.

YANG, S. C. *et al.* Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. **Front Microbiol**, Basel, Switzerland, v. 5, 26 may 2014.

YEOMAN, C. J. *et al.* Towards an evolutionary model of animal-associated microbiomes. **Entropy**, Switzerland, v. 13, p. 570-594, dec. 2011.

YORIO, P.; BOERSMA, P. D. The effects of human disturbance on Magellanic Penguin *Spheniscus magellanicus* behaviour and breeding success. **Bird Conservation International**, Cambridge, v. 2, n. 3, p. 161-173, Sep. 1992.

ZHANG, M. M. *et al.* Using natural products for drug discovery: the impact of the genomics era. **Expert Opinion on Drug Discovery**, London, v. 12, p. 475-487, 2017.

ZHANG, S. *et al.* Identification of a Botulinum Neurotoxin-like Toxin in a Commensal Strain of *Enterococcus faecium*. **Cell Host & Microbe**, Cambridge, USA, v. 23, n. 2, p. 169-176.e6, 14 feb. 2018.

ZHAO, X. Q. Genome-based studies of marine microorganisms to maximize the diversity of natural products discovery for medical treatments. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v. 2011, article ID 384572, 3 jun. 2011.

ZHERNAKOVA *et al.* Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. **Science**, New York, vol. 352, n. 6285, p. 565-9, apr. 2016.

ZHONG, Z. *et al.* Comparative genomic analysis of the genus *Enterococcus*. **Microbiological Research**, Jena, Germany, v. 196, p. 95-105, mar. 2017.

APÊNDICE A – CURRÍCULO LATTES

**Janira Prichula** Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/4733135707203160> Última atualização do currículo em 08/12/2019**Resumo informado pelo autor**

Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biociências da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA (2016). Realizou Doutorado-sanduíche na Universidade Harvard, Boston, Massachusetts (2016-2017). Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS (2015). Graduada em Bacharelado (2012) e Licenciatura (2011) em Ciências Biológicas pela UFRGS. Técnica em Biotecnologia pela Escola Técnica da UFRGS (2007). Tem experiência nas áreas de Bioinformática, Biologia e Microbiologia Molecular, Filogenética e Filogenômica de Procaríotos.

(Texto informado pelo autor)

Nome civil

Nome Janira Prichula

Dados pessoais

Nome em citações bibliográficas PRICHULA, J.; PRICHULA, JANIRA

Sexo Feminino

Cor ou Raça Branca

Filiação Eldo Prichula e Euladia Marostega Prichula

Nascimento 26/02/1987 - Frederico Westphalen/RS - Brasil

Carteira de Identidade 6093325188 SSP - RS - 26/01/2012

CPF 056.217.009-02

Endereço residencial General Lima e Silva, 92
Centro - Porto Alegre
90050100, RS - Brasil
Telefone: 51 84749714

Endereço profissional Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Departamento de Ciências Básicas da Saúde
Sarmiento Leite, 245, Laboratório de Microbiologia (201)
centro - Porto Alegre
90050170, RS - Brasil
Telefone: 51 33038742

Endereço eletrônico E-mail para contato : janira.pri@gmail.com
E-mail alternativo janirap@ufcspa.edu.br

Formação acadêmica/titulação

2016 Doutorado em BIOCÊNCIAS.
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
com **período sanduíche** em Harvard University (Orientador: Michael S. Gilmore)
Título: Enterococcus spp. associados a animais marinhos selvagens: genômica comparativa, filogenômica e identificação de moléculas bioativas com potencial aplicação biotecnológica.

Orientador: Adriana Seixas 
Co-orientador: Pedro Alves d'Azevedo/ Ana Paula Guedes Frazzon
Áreas de conhecimento: Microbiologia Molecular

2013 - 2015 Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
Título: Caracterização fenotípica e genotípica de Enterococcus spp. isolados de amostras fecais de pinguins-de-magalhães (Spheniscus magellanicus) encontrados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil, Ano de obtenção: 2015

Orientador: Ana Paula Guedes Frazzon 
Palavras-chave: enterococos, diversidade genética, resistência antimicrobiana, genes de virulência, pinguins-de-magalhães

2012 - 2013 Especialização em Direito Ambiental Nacional e Internacional.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil

Título: A compensação ambiental no âmbito do Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC): Avanços e retrocessos na proteção ambiental
Orientador: Rogério Both

- 2016** Graduação em Biotecnologia Molecular.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
- 2006 - 2012** Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
Título: Diversidade e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de *Enterococcus* spp. isolados de leite bubalino no sul do Brasil
Orientador: Ana Paula Guedes Frazzon
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2006 - 2011** Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
Título: Vamos para o pátio? Aprendendo Ciências Naturais através de oficinas lúdicas
Orientador: Heloísa Junqueira
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2006 - 2007** Ensino Profissional de nível técnico em Curso Técnico em Biotecnologia.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil

Formação complementar

- 2019 - 2019** Curso de curta duração em Montagem e anotação de genomas. (Carga horária: 15h).
Escola Gaúcha de Bioinformática - UFRGS, EGB, Brasil
- 2019 - 2019** Curso de curta duração em Bioestatística. (Carga horária: 3h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2019 - 2019** Curso de curta duração em Oficinas de bioinformática aplicadas às ciências ômicas. (Carga horária: 20h).
Laboratório Nacional de Computação Científica, LNCC, Petropolis, Brasil
- 2019 - 2019** Curso de curta duração em Curso de atualização em BrCAST. (Carga horária: 8h).
Allende e Rozales Treinamentos e Consultorias, ALLEZ, Brasil
- 2018 - 2018** Curso de curta duração em Curso Intensivo de Introdução ao Linux. (Carga horária: 15h).
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
- 2018 - 2018** Curso de curta duração em Phytion Básico. (Carga horária: 5h).
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
- 2018 - 2018** Curso de curta duração em Sequenciamento de nova geração (next generation sequencing). (Carga horária: 3h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2018 - 2018** Curso de curta duração em IV Curso de Inverno em Biologia Evolutiva. (Carga horária: 29h).
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
- 2018 - 2018** Curso de curta duração em Princípios Básicos do R. (Carga horária: 8h).
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
- 2017 - 2017** Principles and Trends in Genomics and Computational Biology. . (Carga horária: 30h).
Institut Pasteur, PASTEUR, Paris, França
Palavras-chave: genomics
- 2016 - 2016** Curso de curta duração em Curso de sequenciamento de nova geração em doenças genéticas. (Carga horária: 12h).
Hospital de Clínicas de Porto Alegre, HCPA, Porto Alegre, Brasil
Palavras-chave: Sequenciamento de nova geração
- 2016 - 2016** Extensão universitária em Tracing the Enterococci from the Paleozoic Era to Hospital Pathoge.
American Society For Microbiology, Washington, Estados Unidos
- 2016 - 2016** Curso de Sistema de Gestão para Laboratórios de Ensaio ABNT ISO/IEC 17025. . (Carga horária: 16h).
Associação Rede de Metrologia e Ensaio do RS, REDE METROLÓGICA, Brasil
- 2016 - 2016** Curso de Sistema de Gestão da Qualidade BPL - Boas Práticas de Laboratórios. . (Carga horária: 16h).
Associação Rede de Metrologia e Ensaio do RS, REDE METROLÓGICA, Brasil
- 2015 - 2015** Extensão universitária em Curso de Micologia Clínica Teórico-Prático. (Carga horária: 6h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2014 - 2014** Extensão universitária em Informática Avançada. (Carga horária: 120h).
Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - RS, SENAC/RS, Porto Alegre, Brasil
- 2014 - 2014** Curso de curta duração em Curso de Bioinformática Aplicado à Microbiologia. (Carga horária: 8h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
Palavras-chave: Bioinformática, microbiologia
- 2013 - 2013** Curso de curta duração em Programa de Aperfeiçoamento em Micologia Aplicada. (Carga horária: 15h).
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
- 2013 - 2013** Extensão universitária em Programa de Treinamento no uso do Portal da CAPES. (Carga horária: 16h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2012 - 2012** Curso de Língua e Culturas Inglesas e Anglófonas. . (Carga horária: 150h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2012 - 2012** Proficiência em Língua Inglesa. .
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
- 2010 - 2010** Orientações para o trabalho na organização pública. . (Carga horária: 30h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2009 - 2009** Curso de curta duração em Técnicas Básicas de Biologia Molecular. (Carga horária: 4h).
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
- 2007 - 2008** Curso de Língua Inglesa. . (Carga horária: 176h).
Associação Comunitária de Ensino de Línguas Estrangeiras, ACELE, Brasil
- 2006 - 2006** Curso de curta duração em III Curso de Sensibilização em Biossegurança. (Carga horária: 2h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2006 - 2006** Curso de curta duração em I Curso de Boas Práticas de Laboratório. (Carga horária: 2h).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2002 - 2002** Curso de curta duração em Língua Espanhola. (Carga horária: 40h).

Escola Estadual Técnica José Cañellas, EETJC, Frederico Westphalen, Brasil

Atuação profissional

1. Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA

Vínculo institucional

- 2019 - Atual** Vínculo: Pesquisador colaborador , Enquadramento funcional: Pesquisador colaborador, Regime: Parcial
Outras informações:
Pesquisador colaborador no projeto: Como as larvas de *Galleria mellonella* são capazes de degradar plástico sintético? (Call 02/2018 - Instituto Serrapilheira). Coordenado pela Profa. Dra. Danielle da Silva Trentin.
- 2016 - Atual** Vínculo: Aluno de Pós-Graduação , Enquadramento funcional: Doutorado acadêmico , Carga horária: 40, Regime: Integral
Outras informações:
Doutorado acadêmico: *Enterococcus* spp. associados a animais marinhos selvagens: genômica comparativa, filogenômica e identificação de moléculas bioativas com potencial aplicação biotecnológica. Orientado pela Profa. Dra. Adriana Seixas.
- 2010 - Atual** Vínculo: Servidor público , Enquadramento funcional: Técnica de Laboratório , Carga horária: 40, Regime: Integral

Atividades

- 11/2018 - Atual** Conselhos, Comissões e Consultoria, Núcleo de Gestão Ambiental
Especificação:
Responsável por ações, projetos e programas de educação continuada na UFCSPA, relacionados ao uso racional de recursos, práticas de sustentabilidade socioambiental e melhorias da qualidade de vida , Coordenadora do Núcleo de Gestão Ambiental
- 09/2017 - 09/2018** Conselhos, Comissões e Consultoria, Comissão de Pós-Graduação
Especificação:
Representante Discente do Nível de Doutorado da UFCSPA , Representar o interesse de todos os alunos de Doutorado da Universidade nas reuniões da Comissão de Pós-Graduação da UFCSPA
- 02/2010 - Atual** Serviço Técnico Especializado, Departamento de Parasitologia e Microbiologia
Especificação:
Assessorar nas atividades de ensino, pesquisa e extensão relacionadas com as áreas de Microbiologia e Biotecnologia na Instituição

2. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Vínculo institucional

- 2013 - 2015** Vínculo: Aluno de Pós-Graduação , Enquadramento funcional: Mestrado Acadêmico , Carga horária: 40, Regime: Integral
Outras informações:
Mestrado Acadêmico: Caracterização fenotípica e genotípica de *Enterococcus* spp. isolados de amostras fecais de pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) encontrados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. Orientado pela Profa. Dra. Ana Paula Guedes Frazzon.
- 2012 - Atual** Vínculo: Colaborador , Enquadramento funcional: Pesquisador colaborador , Carga horária: 20, Regime: Parcial
Outras informações:
Pesquisador colaborador no projeto: Identificação dos principais filos bacterianos e isolamento de *Enterococcus* spp. a partir de amostras fecais de animais marinhos recuperados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul. Coordenado pela Profa. Dra. Ana Paula Guedes Frazzon.
- 2010 - 2010** Vínculo: Estágio voluntário , Enquadramento funcional: Iniciação Científica voluntário , Carga horária: 20, Regime: Parcial
Outras informações:
Estágio extracurricular de Iniciação Científica em projeto de pesquisa: Produção de etanol (bioetanol) a partir de resíduos lignocelulolíticos da soja e outros resíduos agroindustriais. Coordenado pelo Prof. Dr. Marco Antonio Zachia Ayub.
- 2007 - 2009** Vínculo: Colaborador , Enquadramento funcional: Bolsista , Carga horária: 20, Regime: Parcial
Outras informações:
Estágio extracurricular de Iniciação Científica em projeto de pesquisa: Bioconversão de resíduos agroindustriais em bioprocessos: produção de enzimas e outros bioprodutos com aplicações tecnológicas. Coordenado pelo Prof. Dr. Marco Antonio Zachia Ayub.

3. SCHMITT'S CERVEJAS ESPECIAIS - SCHMITT'S

Vínculo institucional

- 2009 - 2009** Vínculo: Trabalho , Enquadramento funcional: Técnica em Biotecnologia , Carga horária: 20, Regime: Parcial
Outras informações:
Auxiliar no controle do processo e da qualidade durante a produção da bebida, bem como em atividades de microbiologia, físico-químico e laboratorial. Atividades de produção em chão de fábrica. Propor melhorias e/ou modificações em processos produtivos já existentes.

Projetos

Projetos de pesquisa

- 2019 - Atual** Call 02/2018 - Instituto Serrapilheira - Como as larvas de *Galleria mellonella* são capazes de degradar plástico sintético?
- Descrição: A eliminação de resíduos plásticos é uma importante questão ambiental que a nossa sociedade enfrenta hoje. Polietileno (PE), presente em sacos plásticos e embalagens, é um material inerte amplamente resistente à biodegradação e representa uma ameaça ecológica crescente para a vida selvagem terrestre e marinha. A rápida degradação de PE em etilenoglicol por larvas de *Galleria mellonella* foi relatada em 2017; no entanto, não está claro se a atividade provém das larvas ou da atividade enzimática da microbiota. Essa proposta visa entender o processo de degradação natural do plástico por *G. mellonella*, o que poderia fornecer soluções para gerenciar o problema desse resíduo. Para responder a essa grande questão, propomos análises culturais e metagenômicas da microbiota, análises de transcriptômica comparativa, purificação e caracterização de enzimas larvais e/ou microbiana e, análises físico-químicas do PE para comprovar sua degradação.
- Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa
- Alunos envolvidos: Graduação (2); Mestrado acadêmico (1);
- Integrantes: Janira Prichula; Adriana Seixas; Danielle da Silva Trentin (Responsável); Gabriel Vieira Soares; Denise Brentan da Silva
- 2016 - Atual** Doutorado acadêmico: *Enterococcus* spp. associados a animais marinhos selvagens: genômica comparativa, filogenômica e identificação de moléculas bioativas com potencial aplicação biotecnológica.
- Descrição: Estudo em nível genômico da diversidade de bactérias do gênero *Enterococcus* spp. provenientes da microbiota de animais marinhos selvagens da costa brasileira, em relação à presença de determinantes de virulência e resistência, elementos genéticos móveis, relações filogenéticas e potencial produção de moléculas bioativas.
- Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa
- Alunos envolvidos: Graduação (2); Doutorado (1);
- Integrantes: Janira Prichula; Ana Paula Guedes Frazzon; Pedro Alves d'Azevedo; Adriana Seixas (Responsável); Romeu Carlos Zimmer da Luz; Ícaro Maia Santos de Castro
- 2014 - Atual** Identificação dos principais filos bacterianos e isolamento de *Enterococcus* spp. a partir de amostras fecais de animais marinhos recuperados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul.
- Descrição: Estudos têm observado a prevalência de micro-organismos resistentes aos antibióticos, utilizados na clínica médica e veterinária, em amostras alimentares, clínicas, ambientais. Entretanto, pesquisas sobre os perfis de resistência de bactérias isoladas a partir de amostras de animais marinhos não são muito noticiadas, devido à dificuldade em se obter amostras dos ambientes marinhos e por esse ambiente não estar relacionado com fontes de infecção humana, como os ambientes de água doce e sistemas de distribuição de água e esgotos que costumam receber maior atenção. Nesse sentido, o objetivo desse projeto é avaliar a diversidade, o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e os fatores de virulência de micro-organismos isolados de animais marinhos. Além disso, pretende-se avaliar a sensibilidade dessas cepas frente a antibióticos comumente utilizados como tratamento medicamentoso, alguns aspectos que contribuem para a aquisição dessa resistência, e genes relacionados à virulência em bactérias para melhor compreender a ecologia desses animais marinhos e elucidar a trajetória de propagação de linhagens bacterianas resistentes e virulentas no ecossistema marinho.
- Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa
- Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1); Doutorado (9);
- Integrantes: Janira Prichula; Rebeca Inhoque Pereira; Aline Medeiros; Ana Paula Guedes Frazzon (Responsável); Maurício Tavares; Tiane M. de Moura; Ana Cláudia Franco; Fabricio Souza Campos; Jeversson Frazzon; Pedro Alves d'Azevedo; Derek Blaese de Amorim
- 2013 - 2015** Mestrado Acadêmico: Caracterização fenotípica e genotípica de *Enterococcus* spp. isolados de amostras fecais de pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) encontrados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil
- Descrição: Os *Enterococcus* spp. apresentam uma natureza ubiqüitária que lhes permite sobreviver em diversos nichos ecológicos. Estudos envolvendo enterococos isolados de animais marinhos são escassos. Em razão disso, esse trabalho teve como objetivo isolar, identificar, avaliar o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, a presença de fatores de virulência e a diversidade genética de enterococos isolados de amostras fecais de pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) encontrados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. No total, 172 enterococos foram isolados e identificados como *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae* e *E. mundtii*. Cento e quatorze isolados foram sensíveis aos dez antimicrobianos testados. Fenótipos de resistência foram encontrados para ciprofloxacina, eritromicina, norfloxacina e tetraciclina. Todos os isolados resistentes à tetraciclina apresentavam o gene *tet(M)* e apenas dois não apresentaram o *tet(L)*. Genes de virulência, *gelE*, *ace* e *asa* foram detectados nos *E. faecalis*. A atividade de gelatinase foi verificada em 64 isolados. A maioria dos enterococos foi fraco formador de biofilme. A análise dos perfis gerados por PFGE revelou um grande número de clones. Em conclusão, verificou-se que o gênero *Enterococcus* spp. compõem a microbiota do trato gastrointestinal dos pinguins-de-magalhães e a detecção de determinantes de resistência e virulência indica que os enterococos podem constituir um reservatório de tais características e, sendo o ambiente marinho um meio de disseminação, é importante considerar o potencial desse gênero em ocasionar riscos à saúde desses animais e ao ecossistema marinho em geral.
- Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa
- Integrantes: Janira Prichula; Naiara Aguiar Santestevan; Rebeca Inhoque Pereira; Pedro Alves d'Azevedo; Ana Paula Guedes Frazzon (Responsável); Maurício Tavares; Guilherme Raffo Wachholz; Leonardo Almansa Cardoso
- 2010 - 2010** Produção de etanol (bietanol) a partir de resíduos lignocelulolíticos da soja e outros resíduos agroindustriais
- Descrição: O presente projeto visa ampliar os conhecimentos sobre bioprocessos para a produção de etanol mediante o cultivo de leveduras sobre hidrolisados de resíduos agroindustriais, tais como as cascas e as fibras de soja, arroz, cevada, trigo e milho. São estudadas as hidrólises químicas e enzimáticas desses materiais. A fermentabilidade e possibilidade de produção de etanol são estudadas a partir de experimentos cultivando-se linhagens de leveduras osmofílicas selecionadas pelo grupo e cultivadas em SHH. Além disso, são estudados parâmetros de otimização de processo, tais como a influência do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio na formação de etanol e biomassa nesses cultivos. Esse projeto, portanto, apresenta uma alternativa para a degradação de resíduos agroindustriais, gerando produtos com valor econômico, tornando o processamento de alimentos mais rendoso e menos danoso ao ambiente e podendo ser estendida a outros resíduos agro-industriais ricos em fibras vegetais ligno-celulolíticos.
- Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa
- Integrantes: Janira Prichula; Priscila Brasil de Souza Cruz; Marco Antônio Záchia Ayub (Responsável); Angela Machado
- 2007 - 2009** Bioconversão de resíduos agroindustriais em bioprocessos: produção de enzimas e outros bioprodutos com aplicações tecnológicas.
- Descrição: Bioconversão de resíduos agroindustriais por meio de bioprocessos. Produção de enzimas e outros bioprodutos com aplicações tecnológicas. Estudo para a utilização de resíduo agroindustrial da indústria da soja (resíduos lignocelulóticos) como matéria-primas utilizada em processo biotecnológico de produção de xilitol, enzimas e outras biomoléculas com aplicação industrial. Parcerias com a indústria a partir de sistemas tecnológicos para a hidrólise físico-química ou enzimática dos resíduos lignocelulóticos da fibra de soja. Desenvolvimento de processos fermentativos utilizando-se essa matéria-prima para a produção em escala industrial de xilanases, ácido poliglútmico, transglutaminase, xilitol e outras biomoléculas com aplicação industrial. Estudo da fisiologia microbiana para a otimização deste processo. Padronização de condições para processos de cultivo, geometria, operação e controle de biorreatores que sejam economicamente viáveis. Determinação das melhores condições para a condução de cultivo (pH, temperatura, transferência de oxigênio, regime de operação), a fim de se obterem um melhor

aproveitamento das matérias-primas e um menor gasto de energia. Escalonamento dos processos para adequação dos parâmetros determinados no laboratório para a escala piloto ou industrial
 Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa
 Integrantes: Janira Prichula; Priscila Brasil de Souza Cruz; Marco Antônio Záchia Ayub (Responsável); Angela Machado

Áreas de atuação

1. Biologia e Fisiologia dos Microorganismos
2. Genética Molecular e de Microorganismos
3. Microbiologia Molecular
4. Biotecnologia

Idiomas

Inglês	Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem
Espanhol	Compreende Bem , Fala Razoavelmente , Escreve Razoavelmente , Lê Bem
Português	Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem

Prêmios e títulos

- 2019** Destaque de sessão no Congresso UFCSPA (aluno: Ícaro Maia Santos de Castro), Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
- 2018** Destaque de sessão da IV Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFCSPA (aluno: Luís Eduardo Silva Barbosa), Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1.  [doi](#) HUESCAS, C. G. Y.; PEREIRA, R. I.; **PRICHULA, J.**; AZEVEDO, P. A.; FRAZZON, J.; **FRAZZON, A. P. G.**
Frequency of Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPRs) in non-clinical *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains. BRAZILIAN JOURNAL OF BIOLOGY (ONLINE). **JCB** v.1, p.1-6 -, 2018.
Referências adicionais: Português. Meio de divulgação: Meio digital
2.  [doi](#) FRAZZON, ANA PAULA GUEDES; PEREIRA, REBECA INHOQUE; **PRICHULA, JANIRA**; SANTESTEVA, NAIARA AGUIAR; D'AZEVEDO, PEDRO ALVES; MOTTA, AMANDA DE SOUZA
Virulence Profiles in *Enterococcus* spp. Isolated from Raw Buffalo's Milk in South Brazil. JOURNAL OF MICROBIOLOGY (FAISALABAD) . , v.12, p.248 - 254, 2017.
Referências adicionais: Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [doi:10.3923/jm.2017.248.254]
3.  [doi](#) **PRICHULA, J.**; CAMPOS, F. S.; PEREIRA, R. I.; CARDOSO, L. A.; WACHHOLZ, G. R.; PIETA, L.; MARIOT, R. F.; MOURA, T. M.; TAVARES, M.; d'AZEVEDO, P. A.; FRAZZON, J.; **FRAZZON, A. P. G.**
Complete genome sequence of *Enterococcus faecalis* strain P8-1 isolated from wild Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) feces in the South Coast of Brazil. Genome Announcements. , v.4, p.e01531-15. -, 2016.
Palavras-chave: Enterococcus faecalis, feces, Magellanic penguin, genomics
Referências adicionais: Inglês. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4714110/pdf/e01531-15.pdf]
4.  [doi](#) PAIM, THIAGO G. S.; PIETA, LUIZA; **PRICHULA, JANIRA**; SAMBRANO, GUSTAVO E.; SOARES, RENATA; CAIERÃO, JULIANA; FRAZZON, JEVERSON; D'AZEVEDO, PEDRO A.
Draft Genome Sequence of Brazilian *Escherichia coli* Uropathogenic Strain E2. Genome Announcements. , v.4, p.e01085-16 -, 2016.
Referências adicionais: Inglês. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://genomea.asm.org/content/4/5/e01085-16.full.pdf+html][doi:10.1128/genomea.01085-16]
5.  [doi](#) PAIM, THIAGO G. S.; PIETA, LUIZA; **PRICHULA, JANIRA**; SAMBRANO, GUSTAVO E.; SOARES, RENATA; BELLO, ALINE DALL; FRAZZON, JEVERSON; D'AZEVEDO, PEDRO A.
Draft Genome Sequence of *Enterococcus faecalis* Strain F165 Isolated from a Urinary Tract Infection. GENOME ANNOUNCEMENTS. , v.4, p.e01084-16 -, 2016.
Referências adicionais: Inglês. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://genomea.asm.org/content/4/5/e01084-16.full]
6.  [doi](#) **PRICHULA, JANIRA**; PEREIRA, REBECA INHOQUE; WACHHOLZ, GUILHERME RAFFO; CARDOSO, LEONARDO ALMANSA; TOLFO, NEIDIMAR CEZAR CORREA; SANTESTEVAN, NAIARA AGUIAR; MEDEIROS, ALINE WEBER; TAVARES, MAURÍCIO; FRAZZON, JEVERSON; D'AZEVEDO, PEDRO ALVES; FRAZZON, ANA PAULA GUEDES
Resistance to antimicrobial agents among enterococci isolated from fecal samples of wild marine species in the southern coast of Brazil. Marine Pollution Bulletin.. **JCB** v.103, p.1 - 7, 2016.
Palavras-chave: Wild marine species, Enterococci resistant, Resistance genes
Referências adicionais: Inglês. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X16301230]
7.  [doi](#) SANTESTEVAN, NAIARA AGUIAR; DE ANGELIS ZVOBODA, DEJOARA; **PRICHULA, JANIRA**; PEREIRA, REBECA INHOQUE; WACHHOLZ, GUILHERME RAFFO; CARDOSO, LEONARDO ALMANSA; DE MOURA, TIANE MARTIN; MEDEIROS, ALINE WEBER; DE AMORIN, DEREK BLAEESE; TAVARES, MAURÍCIO; D'AZEVEDO, PEDRO ALVES; FRANCO, ANA CLAUDIA; FRAZZON, JEVERSON; FRAZZON, ANA PAULA GUEDES

Antimicrobial resistance and virulence factor gene profiles of *Enterococcus* spp. isolates from wild *Arctocephalus australis* (South American fur seal) and *Arctocephalus tropicalis* (Subantarctic fur seal). *World Journal of Microbiology & Biotechnology* Incorporating the MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology (Dordrecht, Online). **WJCB**, v.31, p.1 - 12, 2015.
Palavras-chave: Wild fur seals, *Enterococci* species, Antimicrobial susceptibility, Virulence genes
Referências adicionais: Inglês. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11274-015-1938-7>

8. **doi:** PIETA, L.; CAMPOS, F. S.; MARIOT, R. F.; PRICHULA, J.; MOURA, T. M.; FRAZZON, A. P. G.; FRAZZON, J.
Complete Genome Sequences of Two Serovars, 1/2a and 4b, Isolated from Dairy Products in Brazil. *GENOME ANNOUNCEMENTS*, v.3, p.e01494-15 -, 2015.
Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*, serovars 1/2a and 4b, food contamination, genomics
Referências adicionais: Inglês. Meio de divulgação: Meio digital
9.  PRICHULA, J.; ZVOBODA, D. A.; PEREIRA, R. I.; SANTESTEVAN, N. A.; MEDEIROS, A. W.; MOTTA, A. S.; d'AZEVEDO, P. A.; GIORDANI, A. R.; FRAZZON, A. P. G.
Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e diversidade das espécies de enterococos isolados de leite cru de búfalos no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.20, p.104 - 109, 2013.
Palavras-chave: enterococos, leite bubalino, resistência
Áreas do conhecimento: Microbiologia de Alimentos
Referências adicionais: Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: <http://www.ufr.br/rbcv/ojs/index.php/rbcv/article/view/170/pdf>

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. SEHNEM, N. T.; PRICHULA, J.; SOUZA-CRUZ, P. B.; AYUB, M. A. Z.
Avaliação da diversidade de fungos de solos expostos a fungicidas do grupo dos triazóis e seleção de indivíduos resistentes a estes xenobióticos In: II Workshop Internacional sobre Microbiologia Ambiental, 2008, Aracaju.
II Workshop Internacional sobre Microbiologia Ambiental, 2008.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. PRICHULA, J.; VAN TYNE, D.; LEBRETON, F.; LUZ, R. C. Z.; CASTRO, I. M. S.; TAVARES, M.; d'AZEVEDO, P. A.; FRAZZON, A. P. G.; GILMORE, M. S.; SEIXAS, A.
Phylogenetic and comparative genomics of marine animal-associated *Enterococcus* from the southern coast of Brazil In: I Escola latino-americana de bioinformática para as ciências ômicas, 2019, Petrópolis.
I Escola latino-americana de bioinformática para as ciências "ômicas" - Apresentação de pôsteres, 2019.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso
2. CUNHA, G. R.; MOTT, M.; COELHO, N.; URGELL, A.; PRICHULA, J.; d'AZEVEDO, P. A.; CANELLAS, E.; BISPO, P.; VAN TYNE, D.; LEBRETON, F.; DIAS, C.; GILMORE, M. S.
Comparative genomics of serotype 20B isolates from invasive disease before and after PCV10 introduction in Southern Brazil In: 11th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases, 2018, Melbourne.
11th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases - ISPPD-11 Programme Book, 2018. v.1. p.37 - 37.
Referências adicionais: Austrália/Inglês. Meio de divulgação: Vários. Home page: <http://https://web.kenes.com/lead/ISPPD18AbstractCD/ISPPD2018/data/HtmlApp/main.html#2>
3. CUNHA, G. R.; COELHO, N.; MOTT, M.; FLORES, G.; LUZ, R. C. Z.; URGELL, A.; PRICHULA, J.; HERBERT, J.; CANELLAS, E.; LEBRETON, F.; VAN TYNE, D.; BISPO, P.; GILMORE, M. S.; DIAS, C.
Development of an online platform to analysis of epidemiological features of *Streptococcus pneumoniae* from whole genome sequencing data In: 11th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases, 2018, Melbourne.
11th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases - ISPPD-11 Programme Book, 2018. v.1. p.58 - 58.
Referências adicionais: Austrália/Inglês. Meio de divulgação: Vários. Home page: <http://https://web.kenes.com/lead/ISPPD18AbstractCD/ISPPD2018/data/HtmlApp/main.html#1>
4. SOARES, R. O.; ROSSATO, A. M.; RAMOS, F. S.; PRICHULA, J.; d'AZEVEDO, P. A.
Effects of human serum on biofilm formation of *Enterococcus faecalis* clinical isolates In: 5th International Conference on Enterococci, 2018, Chamonix.
5th International Conference on Enterococci - Posters Abstracts, 2018. v.1. p.25 - 25
Referências adicionais: França/Inglês. Meio de divulgação: Impresso
5. PRICHULA, J.; VAN TYNE, D.; LEBRETON, F.; VEDOVATTO, M. M.; PAIM, T. G. S.; TAVARES, M.; THOMPSON, C. E.; SEIXAS, A.; d'AZEVEDO, P. A.; FRAZZON, A. P. G.; GILMORE, M. S.
Genomic characterization of wild marine animal-associated *Enterococcus* from the southern coast of Brazil In: 5th International Conference on Enterococci, 2018, Chamonix.
5th International Conference on Enterococci - Posters Abstracts, 2018. v.1. p.39 - 39
Referências adicionais: França/Inglês. Meio de divulgação: Impresso
6. PRICHULA, J.; BARBOSA, L. E. S.; LUZ, R. C. Z.; PEREIRA, R. I.; TAVARES, M.; THOMPSON, C. E.; d'AZEVEDO, P. A.; FRAZZON, A. P. G.; GILMORE, M. S.; SEIXAS, A.
Identification of bioactive molecules in *Enterococcus* spp. from wild marine animals: Bioprospecting new compounds In: 5th International Conference on Enterococci, 2018, Chamonix.
5th International Conference on Enterococci - Posters Abstracts, 2018. v.1. p.38 - 38
Referências adicionais: França/Inglês. Meio de divulgação: Impresso
7. CUNHA, G. R.; BISPO, P.; MOTT, M.; COELHO, N.; PRICHULA, J.; CANELLAS, E.; VAN TYNE, D.; LEBRETON, F.; DIAS, C.; GILMORE, M. S.
Molecular characterization of *Streptococcus pneumoniae* causing ocular and otolaryngology infections In: 11th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases, 2018, Melbourne.
11th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases - ISPPD-11 Programme Book, 2018. v.1. p.446 - 446
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários. Home page: <http://https://web.kenes.com/lead/ISPPD18AbstractCD/ISPPD2018/data/HtmlApp/main.html#0>
8. FRAZZON, A. P. G.; PRICHULA, J.; PEREIRA, R. I.; WACHHOLZ, G. R.; CARDOSO, L. A.; SANTESTEVAN, N. A.; MEDEIROS, A.; TAVARES, M.; d'AZEVEDO, P. A.; FRAZZON, J.
Antimicrobial resistance profiles of enterococci isolated from fecal samples of wild marine animals in the Southern Coast of Brazil In: II International Caparica Conference in Antibiotic Resistance, 2017, Caparica, Portugal.
IC2 AR 2017 Proceedings Book, 2017. v.1. p.1 - 50
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: http://www.ic2ar2017.com/wp-content/uploads/2017/05/IC2AR_PB2017.pdf
9. PRICHULA, J.; CARDOSO, L. A.; PEREIRA, R. I.; TAVARES, M.; d'AZEVEDO, P. A.; FRAZZON, A. P. G.; GILMORE, M. S.; SEIXAS, A.
Genomic analysis in silico and identification of bioactive molecules in *Enterococcus* spp. from wild marine animals: bioprospecting new compounds In: II Encontro do PPG Biociências & Encontro de Pesquisa em Fisiologia do RS, 2017, Porto Alegre.
Divulgação de trabalhos desenvolvidos no PPG Biociências da UFCSPA, 2017.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

10. YERENA, C.; TAVARES, M.; FRAZZON, J.; **FRAZZON, A. P. G.**; PEREIRA, R. I.; **PRICHULA, J.**; d'AZEVEDO, P. A.
Detección y comparación de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas en *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* aislados de muestras clínicas, alimenticias, animales y ambientales In: XXIII CONGRESO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGÍA, 2016, Rosario.
Microbiología Ambiental, 2016.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://www.alam-cam2016.aam.org.ar/descarga/LibroCAMLAM2016.pdf]
11. PEREIRA, R. I.; **PRICHULA, J.**; CARDOSO, L. A.; WACHHOLZ, G. R.; TOLFO, N. C. C.; TAVARES, M.; SANTESTEVAN, N. A.; d'AZEVEDO, P. A. ; FRAZZON, JEVERSON; **FRAZZON, A. P. G.**
Antimicrobial susceptibility profile of *Enterococcus* spp. isolated from fecal samples of marine animals recovered on the North Coast of Rio Grande do Sul, Brazil. In: 28º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2015, Florianópolis.
ANAIS DO 28º CBM 2015, 2015. v.1. p.1 - 1
Palavras-chave: enterococci, profile of susceptibility, marine animals
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://www.sigeventos.com.br/sigeventos/sbmicrobiologia/inscricao/resumos/0009/R1060-1.PDF]
12. **PRICHULA, J.**; PEREIRA, R. I.; CARDOSO, L. A.; WACHHOLZ, G. R.; SANTESTEVAN, N. A.; CUNHA, G. R.; TAVARES, M.; d'AZEVEDO, P. A. ; **FRAZZON, A. P. G.**
Genetic diversity of *Enterococcus* spp. from fecal samples of magellanic penguins from the North Coast of Rio Grande do Sul, Brazil. In: 28º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2015, Florianópolis.
ANAIS DO 28º CBM 2015, Florianópolis, 2015. v.1. p.1 - 1
Palavras-chave: enterococci, genetic diversity, magellanic penguins, PFGE
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://www.sigeventos.com.br/sigeventos/sbmicrobiologia/inscricao/resumos/0009/R1062-1.PDF]
13. **FRAZZON, A. P. G.**; SANTESTEVAN, N. A.; ZVOBODA, D. A.; **PRICHULA, J.**; PEREIRA, R. I.; MOURA, T. M.; TAVARES, M.; d'AZEVEDO, P. A.
Diversity and antimicrobial susceptibility testing of enterococci isolated from fecal samples of fur seal (*OTARIIDAE: Arctocephalus* spp.) from the north coast of Rio Grande do Sul, Brazil. In: 4th ASM Conference on Enterococci - In conjunction with the 8th International Symposium on Antimicrobial Resistance (ISAR), Cartagena.
Anais da 4th ASM Conference on Enterococci - In conjunction with the 8th International Symposium on Antimicrobial Resistance (ISAR), 2014. v.1.
Palavras-chave: enterococci, diversity, antimicrobial susceptibility testing, fur seal
Referências adicionais: Colômbia/Inglês. Meio de divulgação: Impresso
14. **PRICHULA, J.**; PEREIRA, R. I.; WACHHOLZ, G. R.; CARDOSO, L. A.; SANTESTEVAN, N. A.; TAVARES, M.; d'AZEVEDO, P. A. ; **FRAZZON, A. P. G.**
Diversity of enterococci isolated from fecal samples of wild marine animals in north coast of Rio Grande do Sul, Brazil. In: XIX Lancefield - International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases, 2014, Buenos Aires.
Book of Abstracts - XIX Lancefield - International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases, 2014. v.1.
Palavras-chave: diversity, enterococci, marine animals
Referências adicionais: Argentina/Inglês. Meio de divulgação: Vários. Home page: [http://www.lancefield2014.com/downloads/Lancefield2014_BookOfAbstracts.pdf]
15. **PRICHULA, J.**; WACHHOLZ, G. R.; CARDOSO, L. A.; PEREIRA, R. I.; SANTESTEVAN, N. A.; d'AZEVEDO, P. A. ; TAVARES, M.; **FRAZZON, A. P. G.**
Genes relacionados a fatores de virulência em *Enterococcus* spp. isolados de amostras fecais de *Spheniscus magellanicus* recuperados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. In: XXII Congresso Latinoamericano de Microbiología y 4 Congreso Colombiano de Microbiología, 2014, Cartagena.
Anais do XXII CLM Y 4 CCM, 2014. v.5. p.61 - 62
Palavras-chave: fatores de virulência, Enterococcus spp., Spheniscus magellanicus
Referências adicionais: Colômbia/Português. Meio de divulgação: Impresso
16. **FRAZZON, A. P. G.**; PEREIRA, R. I.; **PRICHULA, J.**; SANTESTEVAN, N. A.; d'AZEVEDO, P. A.
Genotypic characterization and identification of virulence factors in *Enterococcus* spp. isolated from raw buffalo milk in southern region of Brazil. In: 4th ASM Conference on Enterococci - In conjunction with the 8th International Symposium on Antimicrobial Resistance (ISAR), 2014, Cartagena.
Anais da 4th ASM Conference on Enterococci - In conjunction with the 8th International Symposium on Antimicrobial Resistance (ISAR), 2014. v.1.
Palavras-chave: enterococci, virulence factors, buffalo milk
Referências adicionais: Colômbia/Inglês. Meio de divulgação: Impresso
17. **PRICHULA, J.**; PEREIRA, R. I.; SANTESTEVAN, N. A.; TAVARES, M.; d'AZEVEDO, P. A. ; **FRAZZON, A. P. G.**
Enterococcus spp. isolados de amostras fecais de tartarugas marinhas recuperadas no Litoral Norte do Rio Grande do Sul. In: 27º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2013, Natal.
Microbiologia Ambiental - Divisão B, 2013. v.1. p.72 -
Palavras-chave: enterococos, amostras fecais, tartarugas marinhas, Rio Grande do Sul
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://www.sigeventos.com.br/sigeventos/sbmicrobiologia/inscricao/mostra_resumo.asp?trald=1]
18. ZVOBODA, D. A.; SANTESTEVAN, N. A.; **PRICHULA, J.**; PEREIRA, R. I.; MOURA, T. M.; TAVARES, M.; FRANCO, A. C.; **FRAZZON, A. P. G.**
Isolamento e identificação de *Enterococcus* sp. a partir de amostras fecais de lobos marinhos. In: 1ª Mostra do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, 2013, Porto Alegre.
Resumos do 1ª Mostra do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, 2013. v.1.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso
19. **PRICHULA, J.**; PEREIRA, R. I.; SANTESTEVAN, N. A.; TAVARES, M.; d'AZEVEDO, P. A. ; **FRAZZON, A. P. G.**
Seleção e isolamento de *Enterococcus* spp. presentes em amostras fecais de *Spheniscus magellanicus* recuperados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul. In: 27º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2013, Natal.
Microbiologia Ambiental - Divisão B, 2013. v.1. p.72 -
Palavras-chave: enterococos, amostras fecais, Spheniscus magellanicus, Rio Grande do Sul
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://www.sigeventos.com.br/sigeventos/sbmicrobiologia/inscricao/mostra_resumo.asp?trald=2]
20. **PRICHULA, J.**; **AYUB, M. A. Z.**
Biodegradação de casca de arroz por *Ceriporiopsis Subvermispora* em cultivos em estado sólido. In: XXII Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2010, Porto Alegre.
XXII Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2010.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/46201]
21. **PRICHULA, J.**; SOUZA-CRUZ, P. B.; **SEHNEM, N. T.**; **AYUB, M. A. Z.**
Avaliação da capacidade de biodegradação de tebuconazole por consórcios bacterianos isolados de solos contaminados por triazóis. In: XXI Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2009, Porto Alegre.
Anais do XXI Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2009.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários. Home page: [http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/42440]
22. **PRICHULA, J.**; MACHADO, A.; SOUZA-CRUZ, P. B.; **AYUB, M. A. Z.**
Extração e determinação de enzimas produzidas por *Ceriporiopsis subvermispora* em cultivos em estado sólido sobre casca de arroz. In: Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassas - IX SHEB, 2009,

Maringá - PR.

Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassas - IX SHEB., 2009.

Palavras-chave: Produção de enzimas, microrganismos

Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital

23. PRICHULA, J.; **SEHNEM, N. T.**; SOUZA-CRUZ, P. B.; **AYUB, M. A. Z.**
Diversidade e resistência de fungos isolados de solos expostos a fungicidas do grupo dos triazóis In: XX Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2008, Porto Alegre.
XX Salão de Iniciação Científica da UFRGS., 2008. p.322 -
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page:
[http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/50759]
24. PRICHULA, J.; **SEHNEM, N. T.**; SOUZA-CRUZ, P. B.; **AYUB, M. A. Z.**
Avaliação de diferentes técnicas de extração de microrganismos de solos expostos a fungicidas do grupo dos triazóis In: XIX Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2007, Porto Alegre.
Anais do XIX Salão de Iniciação Científica da UFRGS., 2007. p.389 -
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page:
[http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/57983]

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. CASTRO, I. M. S.; **PRICHULA, J.**; SEIXAS, A.; HERBERT, J.; VEDOVATTO, M. M.; LUZ, R. C. Z.; **FRAZZON, A. P. G.**; d'AZEVEDO, P. A.
JAMIRA: uma plataforma para análise de dados de sequenciamento de genomas de *Enterococcus* spp.
In: Escola Gaúcha de Bioinformática - IGB, 2019, Porto Alegre.
Resumos expandidos., 2019.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro
2. SANTESTEVAN, N. A.; ZVOBODA, D. A.; PRICHULA, J.; PEREIRA, R. I.; MOURA, T. M.; d'AZEVEDO, P. A.; TAVARES, M.; **FRAZZON, A. P. G.**
Detecção de genes relacionados a fatores de virulência em *Enterococcus* spp. isolados de amostras fecais de lobos-marinhos do Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. In: VII Simpósio Brasileiro de Microbiologia Aplicada, III Encontro Latino Americano de Microbiologia, IX Encontro Nacional de Estudantes de Pós-Graduação em Microbiologia da Área Agrícola, 2014, Porto Alegre.
Anais do VII SBMA, III ELAM., 2014. v.1. p.127 - 128
Palavras-chave: *Enterococcus* spp., fatores de virulência, lobos-marinhos
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso
3. PRICHULA, J.; PEREIRA, R. I.; CARDOSO, L. A.; WACHHOLZ, G. R.; SANTESTEVAN, N. A.; d'AZEVEDO, P. A.; TAVARES, M.; **FRAZZON, A. P. G.**
Diversidade e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Enterococcus* spp. isolados de amostras fecais de pinguins-de-magalhães recuperados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. In: VII Simpósio Brasileiro de Microbiologia Aplicada, III Encontro Latino Americano de Microbiologia, IX Encontro Nacional de Estudantes de Pós-Graduação em Microbiologia da Área Agrícola, 2014, Porto Alegre.
Anais do VII SBMA, III ELAMA., 2014. v.1. p.93 - 94
Palavras-chave: *Enterococcus* spp., diversidade, pinguins-de-magalhães
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso
4. PRICHULA, J.; ZVOBODA, D. A.; PEREIRA, R. I.; SANTESTEVAN, N. A.; MEDEIROS, A.; d'AZEVEDO, P. A.; MOTTA, A. S.; **FRAZZON, A. P. G.**
Seleção e isolamento de *Enterococcus* sp. de leite bubalino In: VI Simpósio de Microbiologia Aplicada e II Encontro Latino Americano de Microbiologia Aplicada., 2012, Porto Alegre.
Anais do VI SMA e II ELAMA - Microbiologia de Alimentos e Industrial., 2012. v.1. p.220 - 223
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital
5. PRICHULA, J.; LONDERO, G. L.; SOUZA-CRUZ, P. B.; **AYUB, M. A. Z.**
Avaliação da produção de enzimas de interesse biotecnológico por fungos da Amazônia In: III Simpósio de Microbiologia Aplicada, 2009, Porto Alegre - RS.
Anais do III Simpósio de Microbiologia Aplicada., 2009. v.1. p.147 - 150
Palavras-chave: fungos, enzimas, biotecnologia, Amazônia
Áreas do conhecimento: Microbiologia
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital

Apresentação de trabalho e palestra

1. CASTRO, I. M. S.; **PRICHULA, J.**; **FRAZZON, A. P. G.**; LUZ, R. C. Z.; SEIXAS, A.
Uma plataforma para caracterização genômica de cepas do gênero *Enterococcus* spp., 2019.
(Congresso,Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Cidade: Porto Alegre, RS; Evento: Congresso UFCSPA; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
2. **PRICHULA, J.**; VEDOVATTO, M. M.; LUZ, R. C. Z.; CASTRO, I. M. S.; GILMORE, M. S.; **FRAZZON, A. P. G.**; d'AZEVEDO, P. A.; SEIXAS, A.
Caracterização genômica e identificação de moléculas bioativas de *Enterococcus* spp. de animais marinhos selvagens. 2018. (Outra,Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários; Local: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Cidade: Porto Alegre; Evento: III Encontro do PPG Biociências & Encontro de Pesquisa em Biologia Celular; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
3. CASTRO, I. M. S.; **PRICHULA, J.**; HERBERT, J.; SEIXAS, A.; VEDOVATTO, M. M.; LUZ, R. C. Z.; d'AZEVEDO, P. A.; **FRAZZON, A. P. G.**
Desenvolvimento de uma plataforma web para caracterização genômica de cepas de *Enterococcus* spp., 2018. (Outra,Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio magnético; Local: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Cidade: Porto Alegre; Evento: IV Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
4. VEDOVATTO, M. M.; **PRICHULA, J.**; CASTRO, I. M. S.; LUZ, R. C. Z.; **FRAZZON, A. P. G.**; d'AZEVEDO, P. A.; SEIXAS, A.
Genômica comparativa de *Enterococcus* spp. isolados de fezes de pinguins-de-magalhães selvagens (*Spheniscus magellanicus*) do Litoral Norte do Sul do Brasil. 2018. (Outra,Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários; Local: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Cidade: Porto Alegre; Evento: IV Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
5. BARBOSA, L. E. S.; **PRICHULA, J.**; **FRAZZON, A. P. G.**; d'AZEVEDO, P. A.; SEIXAS, A.
Produção de moléculas antimicrobianas por *Enterococcus* spp. de animais marinhos selvagens. 2018. (Outra,Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários; Local: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Cidade: Porto Alegre; Evento: IV Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

6. PRICHULA, J.
Relatos de experiência de estrangeiros estudando na UFCSPA e estudantes da UFCSPA que realizaram mobilidade no exterior, 2018. (Seminário, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários; Local: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Cidade: Porto Alegre; Evento: I Seminário de Internacionalização da UFCSPA; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
7. LUZ, R. C. Z.; PRICHULA, J.; VEDOVATTO, M. M.; CASTRO, I. M. S.; FRAZZON, A. P. G.; d'AZEVEDO, P. A.; SEIXAS, A.
Uma visão genômica de isolados de Enterococcus spp. associados a animais marinhos selvagens, 2018. (Outra, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários; Local: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Cidade: Porto Alegre; Evento: IV Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
8. PRICHULA, J.
Caracterização fenotípica e genotípica de Enterococcus spp. isolados de amostras fecais de pinguins-de-magalhães (Spheniscus magellanicus) encontrados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil, 2015. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro; Local: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Cidade: Porto Alegre; Evento: Disciplina de Seminários em Microbiologia Clínica I; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
9. PRICHULA, J.
Experiências vivenciadas durante a prática de estágio docente, 2011. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso; Local: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Cidade: Porto Alegre; Evento: Disciplina de Introdução aos Estágios de Ciências e Biologia (EDU 02031); Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal do Rio Grande do Sul
10. PRICHULA, J.; AYUB, M. A. Z.
Biodegradação de casca de arroz por Ceriporiopsis Subvermispora em cultivos em estado sólido, 2010. (Outra, Apresentação de Trabalho)
Áreas do conhecimento: Microbiologia Ambiental
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital; Local: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Cidade: Porto Alegre; Evento: XXII Salão de Iniciação Científica da UFRGS; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal do Rio Grande do Sul
11. PRICHULA, J.; SOUZA-CRUZ, P. B.; SEHNEM, N. T.; AYUB, M. A. Z.
Avaliação da capacidade de biodegradação de tebuconazole por consórcios bacterianos isolados de solos contaminados por triazóis, 2009. (Outra, Apresentação de Trabalho)
Áreas do conhecimento: Microbiologia
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital; Local: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Cidade: Porto Alegre; Evento: XXI Salão de Iniciação Científica; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal do Rio Grande do Sul
12. PRICHULA, J.; SEHNEM, N. T.; SOUZA-CRUZ, P. B.; AYUB, M. A. Z.
Diversidade e resistência de fungos isolados de solos expostos a fungicidas do grupo dos triazóis, 2008. (Outra, Apresentação de Trabalho)
Áreas do conhecimento: Microbiologia
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital; Local: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Cidade: Porto Alegre; Evento: XX Salão de Iniciação Científica; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal do Rio Grande do Sul
13. PRICHULA, J.; SEHNEM, N. T.; SOUZA-CRUZ, P. B.; AYUB, M. A. Z.
Avaliação de diferentes técnicas de extração de microrganismos de solos expostos a fungicidas do grupo dos triazóis, 2007. (Outra, Apresentação de Trabalho)
Áreas do conhecimento: Microbiologia
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital; Local: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Cidade: Porto Alegre; Evento: XIX Salão de Iniciação Científica; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Produção técnica

Trabalhos técnicos

1. STEIN, A. T.; RASIA FILHO, A. A.; OLIVEIRA JUNIOR, A. A.; ESPERANDIO, I. B.; PRICHULA, J.; DEUS, A. C.; MAUES, J. L.
Plano de Internacionalização da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, 2018
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários. Home page: <https://www.ufcspa.edu.br/ufcspa/institucional/escritorio-internacionalizacao/plano-institucional-internacionalizacao.pdf>
2. ZANETI, I. C. B. B.; VIGNOLI-SILVA, M.; REIS, N. G.; PRICHULA, J.; FLECK, A. S.; CUNHA, A. C. B.; DANNI, M. R. M.
Plano de Gestão de Logística Sustentável na Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, 2013
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários. Home page: <http://www.ufcspa.edu.br/ufcspa/institucional/plano-de-gestao-de-logistica-sustentavel.pdf>

Demais produções técnicas

1. PRICHULA, J.; TOLFO, A.
Separação e Descarte de Resíduos, 2015. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
Referências adicionais: Brasil/Português. 4 horas. Meio de divulgação: Impresso
2. KROB, A.; BOHRER, P.; XIMENES, S.; PRICHULA, J.; SANTESTEVAN, N. A.; RODRIGUES, F.; ROSÁRIO, F.
I Minicurso de Educação Ambiental, 2010. (Outro, Curso de curta duração ministrado)
Referências adicionais: Brasil/Português. 28 horas. Meio de divulgação: Impresso

Orientações e Supervisões

Orientações e supervisões

Orientações e supervisões concluídas

Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1.  Romeu Carlos Zimmer da Luz. **Desenvolvimento de uma ferramenta para visualização posicional dos resultados gerados por plataformas de análise genômica comparativa de procariotos**. 2019. Curso (Informática Biomédica) - Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Referências adicionais: Brasil/Português.
2.  Ícaro Maia Santos de Castro. **Uma plataforma para caracterização genômica de bactérias do gênero Enterococcus spp.**. 2019. Curso (Informática Biomédica) - Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Referências adicionais: Brasil/Português.

Orientações e supervisões em andamento

Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1.  Tiago de Oliveira Gonçalves. **Desenvolvimento de um pipeline para caracterização funcional de proteínas hipotéticas**. 2019. Curso (Informática Biomédica) - Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Referências adicionais: Brasil/Português.

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. **29th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)**, 2019. (Congresso)
2. Apresentação de Poster / Painel no(a) **I Escola Latino-Americana de bioinformática para as ciências ômicas**, 2019. (Outra)
Phylogenetic and comparative genomics of marine animal-associated Enterococcus from the southern coast of Brazil.
3. **28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)**, 2018. (Congresso)
4. Apresentação de Poster / Painel no(a) **5th International Conference on Enterococci**, 2018. (Congresso)
Genomic characterization of wild marine animal-associated Enterococcus from the southern coast of Brazil.
5. **I Seminário de Internacionalização UFCSPA**, 2018. (Seminário)
Relatos de experiência de estrangeiros estudando na UFCSPA e estudantes da UFCSPA que realizaram mobilidade no exterior.
6. Apresentação de Poster / Painel no(a) **III Encontro do PPG Biociências & Encontro de Pesquisa em Biologia Celular**, 2018. (Encontro)
Caracterização genômica e identificação de moléculas bioativas de Enterococcus spp. de animais marinhos selvagens.
7. Apresentação de Poster / Painel no(a) **28º Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 2015. (Congresso)
Genetic diversity of Enterococcus spp. from fecal samples of magellanic penguins from the North Coast of Rio Grande do Sul, Brazil.
8. **2º Workshop Adesão Microbiana e Superfícies**, 2014. (Outra)
9. Apresentação de Poster / Painel no(a) **VII Simpósio Brasileiro de Microbiologia Aplicada, III Encontro Latino Americano de Microbiologia, IX Encontro Nacional de Estudantes de Pós-Graduação em Microbiologia da Área Agrícola**, 2014. (Simpósio)
Diversidade e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de Enterococcus spp. isolados de amostras fecais de pinguins-de-magalhães recuperados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil..
10. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XXII Congresso Latinoamericano de Microbiología y 4 Congreso Colombiano de Microbiología**, 2014. (Congresso)
Genes relacionados a fatores de virulência em Enterococcus spp. isolados de amostras fecais de Spheniscus magellanicus recuperados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil.
11. **1º Ciclo de Seminários do Núcleo de Estudos em Microbiologia Aplicada/ NEMA**, 2013. (Outra)
12. Apresentação de Poster / Painel no(a) **27º Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 2013. (Congresso)
Enterococcus spp. isolados de amostras fecais de tartarugas marinhas recuperadas no Litoral Norte do Rio Grande do Sul.
13. Apresentação de Poster / Painel no(a) **27º Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 2013. (Congresso)
Seleção e isolamento de Enterococcus spp. presentes em amostras fecais de Spheniscus magellanicus recuperados no Litoral Norte do Rio Grande do Sul..
14. **I Simpósio de Microbiologia Clínica da UFCSPA**, 2012. (Simpósio)
15. **Livros que seu aluno pode ler V**, 2012. (Outra)
16. Apresentação de Poster / Painel no(a) **VI Simpósio de Microbiologia Aplicada e II Encontro Latino Americano de Microbiologia Aplicada**, 2012. (Simpósio)
Seleção e isolamento de Enterococcus sp. de leite bubalino.

17. II Ciclo de atividades sobre saúde e meio ambiente da UFCSPA, 2010. (Outra)
18. Apresentação de Poster / Painel no(a) **III Simpósio de Microbiologia Aplicada**, 2009. (Simpósio)
Avaliação da produção de enzimas de interesse biotecnológico por fungos da Amazônia.
19. Apresentação de Poster / Painel no(a) **Simpósio de hidrólise enzimática de biomassas - IX SHEB**, 2009. (Simpósio)
Extração e determinação de enzimas produzidas por Ceriporiopsis subvermispura em cultivos em estado sólido sobre casca de arroz..
20. I Simpósio de Microbiologia Aplicada, 2007. (Simpósio)

Organização de evento

1. KIFFER, W.; ALVES, S.; OLIVEIRA, J. A.; BELAUSTEGUI, H.; **PRICHULA, J.**
6 Encontro de responsáveis ambientais das províncias, estados e regiões da América Latina e do Caribe., 2019. (Outro, Organização de evento)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital
2. AZEVEDO, P. A.; DIAS, C.; ZIMMER, K. R.; BARROS, M. P.; **PRICHULA, J.**; TRENTIN, D. S.
9 Encontro do Núcleo de Estudos em Microbiologia Aplicada (NEMA): Ciclo de palestras e Workshop DivulgaMicro, 2019. (Outro, Organização de evento)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital
3. SAFFI, J.; ESPERANDIO, I. B.; **PRICHULA, J.**; CASTRO, I. M. S.
I Seminário de Internacionalização UFCSPA, 2018. (Outro, Organização de evento)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital
4. d'AZEVEDO, P. A.; DIAS, C. A. G.; **PRICHULA, J.**; COMERLATO, J.; BARROS, M. P.; TRENTIN, D. S.
Microbiologia nas diferentes profissões da área da saúde, 2018. (Outro, Organização de evento)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários
5. TRENTIN, D.; DIAS, C. A. G.; COMERLATO, J.; SCHNEIDER, R.; PEREIRA, R. I.; FETZNER, T. D.; **PRICHULA, J.**
Interfaces da microbiologia nas diferentes profissões da saúde - Núcleo de Estudos em Microbiologia Aplicada, 2017. (Outro, Organização de evento)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital
6. SAND, S. T. V. D.; PASTORE, A. P. W.; **PRICHULA, J.**; SOUZA, A. F.; AZAMBUJA, A. O.; RIBAS, A. D. R. E.; ANTONELLO, A. M.; KARUSKY, C. M.; OLIVEIRA, D. V.; BUCKER, F.; ALBIERO, G.; COSTA, G. A.; SILVA, J. L. R.; COELHO, J. P.; FABRES, L. F.; OTTON, L. M.; BORBA, M. P.; BEKER, S. A.; PEREIRA, T. N.; PEREIRA, R. I.; MASCHIO, V. J.; SILVA, V. Z.
VII Simpósio Brasileiro de Microbiologia Aplicada, III Encontro Latino Americano de Microbiologia, IX Encontro Nacional de Estudantes de Pós-Graduação em Microbiologia da Área Agrícola, 2014. (Outro, Organização de evento)
Áreas do conhecimento: Microbiologia Aplicada
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários
7. VIGNOLI-SILVA, M.; **PRICHULA, J.**
Curso de plantas medicinais: uso criterioso e aspectos da conservação, 2010. (Outro, Organização de evento)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital
8. BICA, C. G.; VIGNOLI-SILVA, M.; **PRICHULA, J.**
II Ciclo de atividades sobre saúde e meio ambiente da UFCSPA, 2010. (Outro, Organização de evento)
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital

Bancas

Bancas

Participação em banca de comissões julgadoras

Outra

1. **Congresso da UFCSPA**, 2019
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
Referências adicionais: Brasil/Português.
2. **IV Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre**, 2018
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
Referências adicionais: Brasil/Português.
3. **III Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre**, 2017
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
Referências adicionais: Brasil/Português.

Totais de produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódico	9
Trabalhos publicados em anais de eventos	30
Apresentações de trabalhos (Conferência ou palestra)	2
Apresentações de trabalhos (Congresso)	1
Apresentações de trabalhos (Seminário)	1
Apresentações de trabalhos (Outra)	9

Produção técnica

Trabalhos técnicos (outra)	2
Curso de curta duração ministrado (outro)	2

Orientações

Orientação concluída (trabalho de conclusão de curso de graduação)	2
Orientação em andamento (trabalho de conclusão de curso de graduação)	1

Eventos

Participações em eventos (congresso)	7
Participações em eventos (seminário)	1
Participações em eventos (simpósio)	6
Participações em eventos (encontro)	1
Participações em eventos (outra)	5
Organização de evento (outro)	8
Participação em banca de comissões julgadoras (outra)	3

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 08/12/2019 às 23:46:09.