

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo será disponibilizado somente a partir de 20/09/2026

At the author's request, the full text will not be available online until September 20, 2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**SEQUENCIAMENTO DE GENOMA COMPLETO COMO FERRAMENTA
PARA DETERMINAÇÃO DO PAPEL DAS CADEIAS DE PRODUÇÃO
CONVENCIONAL E ALTERNATIVA DE CARNE DE FRANGO NA
PROMOÇÃO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *Salmonella* spp.,
Escherichia coli E *Enterococcus* spp.**

CAMILA KOUTSODONTIS CERQUEIRA CÉZAR

Botucatu – SP
Setembro de 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**SEQUENCIAMENTO DE GENOMA COMPLETO COMO FERRAMENTA
PARA DETERMINAÇÃO DO PAPEL DAS CADEIAS DE PRODUÇÃO
CONVENCIONAL E ALTERNATIVA DE CARNE DE FRANGO NA
PROMOÇÃO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM
SALMONELLA SPP., *ESCHERICHIA COLI* E *ENTEROCOCCUS SPP.***

CAMILA KOUTSODONTIS CERQUEIRA CÉZAR

Tese apresentada junto ao Programa de
Pós-graduação em Medicina Veterinária
para defesa do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Gonçalves
Pereira

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Cézar, Camila Koutsodontis Cerqueira.

Sequenciamento de genoma completo como ferramenta para determinação do papel das cadeias de produção convencional e alternativa de carne de frango na promoção de resistência aos antibióticos em *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Enterococcus spp.*/ Camila Koutsodontis Cerqueira Cézar. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Juliano Gonçalves Pereira

Capes: 50701037

1. Agricultura alternativa. 2. *Escherichia coli*. 3. *Enterococcus*.
4. Resistência microbiana a medicamentos. 5. *Salmonella*.

Palavras-chave: Agricultura alternativa; *E. coli*; *Enterococcus spp.*;
Resistência antimicrobiana; *Salmonella spp.*.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A pesquisa investiga o desenvolvimento da resistência a antibióticos em bactérias presentes em frangos de corte, tanto em sistemas convencionais quanto livres de antibióticos. Os resultados poderão contribuir para práticas agrícolas mais seguras, promovendo a saúde pública e garantindo alimentos de melhor qualidade para a população.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The research investigates the development of antibiotic resistance in bacteria found in broiler chickens, in both conventional and antibiotic-free systems. The findings may contribute to safer agricultural practices, promoting public health and ensuring higher quality food for the population.

Nome do Autor: Camila Koutsodontis Cerqueira César

Título: SEQUENCIAMENTO DE GENOMA COMPLETO COMO FERRAMENTA PARA DETERMINAÇÃO DO PAPEL DAS CADEIAS DE PRODUÇÃO CONVENCIONAL E ALTERNATIVA DE CARNE DE FRANGO NA PROMOÇÃO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *SALMONELLA SPP.*, *ESCHERICHIA COLI* E *ENTEROCOCCUS SPP.*

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Juliano Gonçalves Pereira

Presidente e Orientador

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), câmpus Botucatu

Prof. Dr. José Carlos de Figueiredo Pantoja

Membro

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), câmpus Botucatu

Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), câmpus Botucatu

Prof. Dr. Mateus de Souza Ribeiro Mioni

Membro

Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), câmpus Jaboticabal

Prof Dr. Marcus Vinícius Coutinho Cossi

Membro

Departamento de Veterinária

Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Data da defesa: 20/09/2024

|

AGRADECIMENTOS

À minha mãe e minha γιαγιά Iolandas, minha tia Lia, e meu παππούς (*in memoriam*) que desde cedo me inspiraram a ser uma mulher forte, equilibrada e sempre em busca do melhor, ensinando-me valores inestimáveis que levarei para toda a vida. Ao meu pai Jayme e minha tia Zu (*in memoriam*) que sempre me apoiaram a fazer veterinária e sempre tiveram muito orgulho dos meus passos.

Ao meu querido irmão, João Pedro, cujo incentivo e apoio incondicional foram essenciais em momentos desafiadores. Ao meu padrasto David, pela constante demonstração de afeto e pelo suporte imprescindível ao longo do caminho. Aos meus primos, Marina e André, que sempre me acolheram e sempre me ajudaram ao longo da vida e da jornada acadêmica.

Ao meu namorado Guilherme, pela sua presença constante e pelo apoio que tem sido um suporte fundamental em minha jornada. Expresso minha profunda gratidão aos meus amigos de laboratório, em especial a Ana Carolina, Aryele, Evelyn Fernanda, Marcos, Evelyn Cristine, Lucas, Larissa, Wanderson, cuja parceria e amizade tornaram esta jornada mais leve e produtiva.

Ao meu orientador Juliano, por sua confiança em meu trabalho e por sua orientação precisa e inspiradora ao longo de toda a pesquisa. Ao meu veterano Fábio, e agora professor “Cid”, por seu valioso suporte e contribuições essenciais para o desenvolvimento deste estudo.

Não posso deixar de mencionar minha psicóloga, Regina Mansano dos Santos, por seu apoio inestimável durante momentos desafiadores.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido por meio do Processo nº 2021/12215-8.

Um agradecimento especial ao Jitender P. Dubey, que gentilmente orientou meu trabalho durante minha estadia nos Estados Unidos, contribuindo significativamente para o começo desta pesquisa.

Por fim, expresso minha gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão desta importante etapa em minha jornada acadêmica. Muito obrigada!

“Somente o que é alcançado com a virtude é duradouro”

Sófocles

LISTA DE TABELAS

Table 1 Target genes employed for the molecular confirmation of <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , and <i>Enterococcus</i> spp. isolates in poultry	44
Table 2 Frequency of <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , and <i>Enterococcus</i> spp. in conventional and antibiotic-free poultry supply chains.....	47
Table 3 Distribution of isolates subjected to antimicrobial sensitivity profiling by production chain and pathogen (number of samples and isolates)	47
Table 4 Antibiotic resistance profile of <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , and <i>Enterococcus</i> spp. tested against selected antibacterial agents	48
Table 5 Comparative analysis of antibiotic resistance frequency (%) between isolates from conventional and antibiotic-free production chains for <i>Salmonella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , and <i>Enterococcus</i> spp.....	49
Table 6 Comparison of positive samples, number of isolates, and MDR Isolates in poultry cuts from antibiotic-free and conventional production chains, São Paulo State, Brazil.	51
Table 7 Multidrug-resistant profiles and their distribution among isolates of <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , and <i>Enterococcus</i> spp. in antibiotic-free and conventional production chains	52

LISTA DE FIGURAS

Figure 1 Distribution of resistance genes among <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., and <i>Enterococcus</i> spp. isolated from antibiotic-free and conventional chicken meat production chains.	67
Figure 2 Distribution of resistance genes detected in <i>E. coli</i> isolates from antibiotic-free and conventional chicken meat production chains.....	69
Figure 3 Distribution of resistance genes detected in <i>Salmonella</i> spp. isolates from antibiotic-free and conventional chicken meat production chains.....	70
Figure 4 Distribution of resistance genes in <i>Salmonella</i> isolates from poultry, detailed by gene name and serovar	71
Figure 5 Distribution of resistance genes detected in <i>Enterococcus</i> spp. isolates from antibiotic-free and conventional chicken meat production chains.....	73
Figure 6 Distribution of shared resistance genes between isolates of <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus</i> spp., and <i>Salmonella</i> spp.....	75
Figure 7 Percentage of resistance genes with different mechanisms (target site alteration, efflux pump, and enzymatic) across pathogens and production chains	76

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal
AMP - Ampicillin
ATM - Aztreonam
AZI - Azithromycin
CFO - Ceftiofur
CIP - Ciprofloxacin
CLO - Chloramphenicol
CTF - Cefoxitin
EST - Streptomycin
FAO - Food and Agriculture Organization / Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
GEN - Gentamicin
IPM - Imipenem
LNZ - Linezolid
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MER - Meropenem
MIA - Lista de Antimicrobianos Medicinalmente Importantes
NIT - Nitrofurantoin
NOR - Norfloxacin
OMS - Organização Mundial da Saúde
PBP - Penicillin-Binding Proteins
PEN - Penicillin
RAM - Antimicrobial Resistance
SUT - Sulfamethoxazole/Trimethoprim
TEI - Teicoplanin
TET - Tetracycline
UNE - United Nations Environment Programme / Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
VAN - Vancomycin
WGS - Whole Genome Sequencing / Sequenciamento de Genoma Completo
WOAH - World Organisation for Animal Health / Organização Mundial de Saúde Animal

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	19
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Consumo de carne de frango no Brasil e no mundo	16
2.2 Avanços na criação de animais de produção e uso de antibióticos	16
2.3. Resistência Antimicrobiana como Ameaça à Saúde Pública	17
2.4 Resistência Antimicrobiana e o impacto dos animais de produção na propagação de doenças para os seres humanos	22
2.5 A classificação dos antimicrobianos segundo a OMS	24
2.6 Critérios e Priorização para a Categorização de Antimicrobianos Medicinalmente Importantes (MIA) pela OMS	25
2.7 A contribuição da cadeia Antibiotic-free de criação na mitigação da resistência antimicrobiana	26
2.8 Avanços legislativos e garantias de qualidade: selos de certificação para cadeias <i>antibiotic-free</i>	28
2.9 Principais mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos	30
2.9.1 Limitação da absorção de drogas	30
2.9.2. Modificações dos sítios de ação das drogas	30
2.9.3 Inativação do antimicrobiano	31
2.9.4 Bombas de efluxo	31
2.10 Sequenciamento de genoma completo como ferramenta para rastreamento de genes de resistência antimicrobiana	31
2.11 Conclusão	33
3 OBJETIVOS	34
3.1 OBJETIVO GERAL	34
4 REFERÊNCIAS	35
CAPÍTULO 2	39
Artigo 1:	39
<i>Investigating Frequency Trends of Antimicrobial Resistance in Poultry Isolates of Salmonella spp., E. coli, and Enterococcus spp. within Conventional and Antibiotic-Free Approaches.</i>	40
ABSTRACT	40
1. Introduction	41
2. Materials and methods	42
2.1 Sampling	42

2.2 <i>Salmonella</i> spp. detection	43
2.3 <i>Escherichia coli</i> detection	43
2.4 <i>Enterococcus</i> spp. detection	44
2.5 Molecular confirmation of the isolates.....	44
2.6 Antimicrobial resistance profile	45
2.7 Data analysis.....	46
3. Results	46
3.1 Overall.....	46
3.2 Antibiotic resistance profile of <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , and <i>Enterococcus</i> spp. from chicken cuts in conventional and antibiotic-free production chains	47
3.2.1 Resistance profile obtained in <i>Salmonella</i> spp. isolates:.....	48
3.2.2 Resistance profile obtained from <i>E. coli</i> isolates:.....	49
3.2.3 Resistance profile obtained from <i>Enterococcus</i> spp. isolates:	50
3.3 Multidrug resistance profiles	51
4 Discussion	53
5. Conclusions	55
Declaration of competing interest.....	55
Acknowledgements.....	55
Ethics in publishing	55
CRediT author statement.....	56
References	56
Artigo 2:	60
<i>Comparing resistance genes of Salmonella spp., E. coli, and Enterococcus spp., in poultry and questioning whether antibiotic-free production chains are truly better</i>	61
ABSTRACT	62
1. Introduction.....	62
2. Materials and methods	63
2.1 Sampling and detection of <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> and <i>Enterococcus</i> spp. ..	64
2.2 DNA extraction.....	64
2.3 Preparation of isolates and Next Generation Sequencing	64
2.4 Isolates submitted to NGS.....	65
2.5 Data Analysis	66
3. Results	66
3.1 Frequency of antimicrobial resistance genes in <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , and <i>Enterococcus</i> spp. across conventional and antibiotic-free poultry production chains	66
3.2 Comparative analysis of antimicrobial resistance gene profiles in <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , and <i>Enterococcus</i> spp. isolates across conventional and antibiotic-free production chains.....	67
3.2.1 Antimicrobial resistance gene profiles in <i>Escherichia coli</i> isolates	67

3.2.2 Antimicrobial resistance gene profiles in <i>Salmonella</i> spp. isolates.....	69
3.3 Diversity and Sharing of Antimicrobial Resistance Genes Among Pathogens 73	
3.4 Resistance Mechanisms from genes found in <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., and <i>Enterococcus</i> spp. and Their Comparison Across Production Chains.....	75
4. Discussion	76
5. Conclusion.....	78
Funding	79
Ethics in publishing	79
References	81
CAPÍTULO 3.....	84
Considerações Finais.....	85

CERQUEIRA-CÉZAR, CAMILA KOUTSODONTIS. Sequenciamento de genoma completo como ferramenta para determinação do papel das cadeias de produção convencional e alternativa de carne de frango na promoção de resistência aos antibióticos em *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), 92 p.

Resumo

O presente estudo se propôs a investigar os perfis fenotípico e genotípico de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. em cortes de frango provenientes de cadeias convencionais e *antibiotic-free*, adquiridos em estabelecimentos comerciais na região de Botucatu, São Paulo, Brasil. Ao total, 284 amostras de cortes de frangos foram coletados, sendo 141 de cadeia convencional e 143 de cadeia *antibiotic-free*, foram submetidos a análises diagnósticas para detectar a presença dos três microrganismos mencionados, seguindo protocolos específicos para cada. Para *Salmonella* spp., 10,9% das amostras foram positivas, sendo 26 (18,18%) provenientes do sistema convencional e 5 (3,5%) do sistema *antibiotic-free*. Quanto a *Escherichia coli*, foram encontradas 63 (22,1%) amostras positivas, com 29 (20,28%) originárias do sistema convencional e 34 (24,11%) do sistema *antibiotic-free*. Para *Enterococcus* spp., 154 (93,9%) amostras foram positivas, sendo 76 provenientes do sistema convencional e 78 do sistema *antibiotic-free*. Além das análises de resistência, o estudo revelou que 90% dos 210 isolados analisados apresentaram genes de resistência antimicrobiana. Na cadeia livre de antibióticos, 94% dos isolados carregavam genes de resistência, em comparação com 84,9% na cadeia convencional. Entre os isolados de *E. coli*, foram identificados 41 genes de resistência, dos quais 61% foram compartilhados entre as cadeias. *Salmonella* spp. apresentou 20 genes de resistência na cadeia convencional e apenas 8 na cadeia livre de antibióticos. *Enterococcus* spp. apresentou 28 genes de resistência, com 22 na cadeia convencional e 19 na cadeia livre de antibióticos. Os mecanismos de resistência predominantes foram as bombas de efluxo em *Salmonella* spp. e *E. coli*, e as alterações no local de ação em *Enterococcus* spp. O compartilhamento de genes

entre *E. coli* e *Salmonella spp.*, especialmente na cadeia convencional, destaca o risco de transferência horizontal de genes. Estes resultados evidenciam que a simples adoção de sistemas de produção livre de antibióticos pode não ser suficiente para conter a resistência antimicrobiana, sublinhando a necessidade de estratégias multifacetadas para enfrentar esse problema crescente.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana; Agricultura alternativa; *Salmonella spp.*; *E. coli*; *Enterococcus spp.*

CERQUEIRA-CÉZAR, CAMILA KOUTSODONTIS. Whole genome sequencing as a tool for determining the role of conventional and antibiotic-free broiler industries regarding the promotion of bacterial resistance of *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, and *Enterococcus* spp. Ph.D. Thesis– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), 92 p.

Abstract

The present study aimed to investigate the phenotypic and genotypic antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, and *Enterococcus* spp. in chicken cuts from conventional and antibiotic-free production chains, purchased from retail stores in the Botucatu region, São Paulo, Brazil. A total of 284 chicken samples were collected, with 141 from the conventional chain and 143 from the antibiotic-free chain, and were subjected to diagnostic analyses to detect the presence of the three mentioned microorganisms, following specific protocols for each. For *Salmonella* spp., 10.9% of the samples were positive, with 26 (18.18%) from the conventional system and 5 (3.5%) from the antibiotic-free system. For *Escherichia coli*, 63 (22.1%) samples were positive, with 29 (20.28%) from the conventional system and 34 (24.11%) from the antibiotic-free system. For *Enterococcus* spp., 154 (93.9%) samples were positive, with 76 from the conventional system and 78 from the antibiotic-free system. In addition to resistance analyses, the study revealed that 90% of the 210 isolates analyzed harbored antimicrobial resistance genes. In the antibiotic-free chain, 94% of the isolates carried resistance genes, compared to 84.9% in the conventional chain. Among *E. coli* isolates, 41 resistance genes were identified, 61% of which were shared between the chains. *Salmonella* spp. displayed 20 resistance genes in the conventional chain and only 8 in the antibiotic-free chain. *Enterococcus* spp. presented 28 resistance genes, with 22 in the conventional chain and 19 in the antibiotic-free chain. The predominant resistance mechanisms were efflux pumps in *Salmonella* spp. and *E. coli*, and target site alterations in *Enterococcus* spp. The sharing of genes between *E. coli* and *Salmonella* spp., especially in the conventional chain, highlights the risk of horizontal gene transfer. These results underscore that simply adopting antibiotic-free production systems may not be sufficient to

contain antimicrobial resistance, emphasizing the need for multifaceted strategies to address this growing issue.

Keywords: Antimicrobial resistance; Antibiotic-free agriculture; *Salmonella spp.*; *E. coli*; *Enterococcus spp.*

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Os agentes antimicrobianos, que incluem os antibióticos, são drogas de extrema importância utilizadas para tratar, controlar e prevenir infecções bacterianas. Os antibióticos têm a capacidade de agir de forma específica contra as bactérias causadoras de doenças. Sua utilização desempenha um papel fundamental na proteção da saúde e do bem-estar humana e animal.

Contudo, é crucial ressaltar que o uso inadequado dessas substâncias pode trazer consequências como o surgimento de bactérias resistentes, as quais não respondem aos tratamentos com antibióticos convencionais. Por essa razão, é imprescindível que sejam utilizados de forma responsável e criteriosa, com base em orientações e prescrições médicas apropriadas. Somente assim, poderemos assegurar a eficácia contínua dessas importantes ferramentas no combate às infecções bacterianas, tanto no âmbito veterinário quanto na saúde pública.

De acordo com relatórios da OMS, estima-se que a resistência antimicrobiana seja responsável por mais de 700.000 mortes anuais em todo o mundo. As projeções são de que, em 2050, 10 milhões de pessoas sejam vítimas de doenças causadas por patógenos resistentes (Murray *et al.*, 2022; US-FDA, 2019) Além disso, os custos associados ao tratamento de infecções resistentes são substanciais, chegando a bilhões de dólares anualmente.

A cadeia produtiva de frangos de corte é uma área de interesse quando se trata de resistência antimicrobiana. Já na produção orgânica, embora os antimicrobianos sejam permitidos apenas para fins terapêuticos, seu uso ainda é observado. A utilização de antimicrobianos na criação de frangos de corte está relacionada à seleção de bactérias resistentes, que podem ser transmitidas aos seres humanos por meio da cadeia alimentar.

Para compreender melhor esses impactos, é essencial aprofundar nossa investigação sobre as origens e mecanismos subjacentes à resistência antimicrobiana. A consideração de patógenos significativos na criação de frango de corte, como *Salmonella* spp, *E. coli* e *Enterococcus* spp, enriquece a análise dos mecanismos de resistência antimicrobiana por diversas razões. Esses microrganismos são frequentemente associados à produção avícola e podem ser veículos importantes na disseminação da resistência antimicrobiana ao longo da

cadeia alimentar. Ao investigar os mecanismos de resistência nesses patógenos, obtemos dados valiosos sobre as adaptações genéticas subjacentes à resistência e a eficácia de diferentes estratégias de controle. Dessa forma, ao considerar esses patógenos relevantes, podemos ampliar nossa compreensão dos fatores que impulsionam a resistência antimicrobiana na produção de frango de corte e, assim, contribuir para abordagens mais eficazes de mitigação e prevenção.

O sequenciamento de genoma completo surge como uma ferramenta fundamental nesse contexto, proporcionando uma visão abrangente das características genéticas e evolutivas das bactérias em relação à resistência aos antimicrobianos. Esse avanço tecnológico permite um entendimento mais profundo das mutações genéticas, elementos de transferência horizontal de genes e outros fatores que contribuem para a emergência e disseminação de resistência.

Diante dos desafios impostos pela resistência antimicrobiana, é crucial investigar o uso de antimicrobianos tanto em cadeias convencionais quanto em cadeias *antibiotic-free* na produção de frangos de corte. Compreender como os antimicrobianos são utilizados nesses sistemas e o consequente impacto na resistência antimicrobiana é fundamental para desenvolver estratégias eficazes de controle. O estudo do uso de antimicrobianos em cadeias convencionais de frango de corte pode fornecer informações valiosas sobre as práticas atuais e as possíveis alternativas ao uso rotineiro dessas substâncias. Por outro lado, a análise das cadeias *antibiotic-free*, como a produção orgânica, pode revelar abordagens que minimizem o uso de antimicrobianos, promovendo a saúde animal e reduzindo o risco de disseminação de bactérias resistentes.

Salmonella spp., *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. são exemplos de patógenos bacterianos de importância clínica. *Salmonella* spp. é conhecida por causar infecções alimentares, enquanto *E. coli* pode provocar desde infecções do trato urinário até diarreia hemorrágica. Já *Enterococcus* spp. está frequentemente associado a infecções hospitalares, como a bacteremia.

References

1. WHO - World Health Organization Antibiotic Resistance Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> (accessed on 12 September 2020).
2. Patel, J.; Harant, A.; Fernandes, G.; Mwamelo, A.J.; Hein, W.; Dekker, D.; Sridhar, D. Measuring the Global Response to Antimicrobial Resistance, 2020–21: A Systematic Governance Analysis of 114 Countries. *Lancet Infect. Dis.* **2023**, *23*, 706–718, doi:10.1016/S1473-3099(22)00796-4.
3. Ardakani, Z.; Aragrande, M.; Canali, M. Global Antimicrobial Use in Livestock Farming: An Estimate for Cattle, Chickens, and Pigs. *Animal* **2024**, *18*, 101060, doi:10.1016/j.animal.2023.101060.
4. Mann, A.; Nehra, K.; Rana, J.S.; Dahiya, T. Antibiotic Resistance in Agriculture: Perspectives on Upcoming Strategies to Overcome Upsurge in Resistance. *Curr. Res. Microb. Sci.* **2021**, *2*, 100030, doi:10.1016/j.crmicr.2021.100030.
5. Sapkota, A.R.; Hulet, R.M.; Zhang, G.; McDermott, P.; Kinney, E.L.; Schwab, K.J.; Joseph, S.W. Lower Prevalence of Antibiotic-Resistant Enterococci on U.S. Conventional Poultry Farms That Transitioned to Organic Practices. *Environ. Health Perspect.* **2011**, *119*, 1622–1628, doi:10.1289/ehp.1003350.
6. Gücükoğlu, A.; Çadirci, Ö.; Terzi Gülel, G.; Uyanik, T.; Kanat, S. Serotyping and Antibiotic Resistance Profile of *Listeria Monocytogenes* Isolated from Organic Chicken Meat[1]. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* **2020**, *26*, 499–505, doi:10.9775/kvfd.2019.23638.
7. Ager, E.O.; Carvalho, T.; Silva, E.M.; Ricke, S.C.; Hite, J.L. Global Trends in Antimicrobial Resistance on Organic and Conventional Farms. *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 1–30, doi:10.1038/s41598-023-47862-7.
8. C Reygaert, W. An Overview of the Antimicrobial Resistance Mechanisms of Bacteria. *AIMS Microbiol.* **2018**, *4*, 482–501, doi:10.3934/microbiol.2018.3.482.
9. Wegener HC ANTIBIOTIC RESISTANCE—LINKING HUMAN AND ANIMAL HEALTH. In Proceedings of the Improving food safety through a One Health approach.; Washington: National Academy of Sciences, Ed.; 2012; pp. 331–349.
10. WHO WHO's List of Medically Important Antimicrobials: A Risk Management Tool for Mitigating Antimicrobial Resistance Due to Non-Human Use; 2024; ISBN 9789240084612.
11. Pui, C.F.; Wong, W.C.; Chai, L.C.; Nillian, E.; Ghazali, F.M.; Cheah, Y.K.; Nakaguchi, Y.; Nishibuchi, M.; Radu, S. Simultaneous Detection of *Salmonella* Spp., *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium in Sliced Fruits Using Multiplex PCR. *Food Control* **2011**, *22*, 337–342, doi:10.1016/j.foodcont.2010.05.021.
12. Dias, R.C.B.; dos Santos, B.C.; dos Santos, L.F.; Vieira, M.A.; Yamatogi, R.S.; Mondelli, A.L.; Sadatsune, T.; Sforcin, J.M.; Gomes, T.A.T.; Hernandez, R.T. Diarrheagenic *Escherichia coli* Pathotypes Investigation Revealed Atypical Enteropathogenic *E. coli* as Putative Emerging Diarrheal Agents in Children Living in Botucatu, São Paulo State, Brazil. *Apmis* **2016**, *124*, 299–308, doi:10.1111/apm.12501.
13. Peres, N.D.; Lange, C.C.; Brito, M.A.V.P.; Brito, J.R.F.; Arcuri, E.F.; Cerqueira, M.M.O.P. Detection of *Listeria Monocytogenes* by PCR in Artificially Contaminated Milk Samples. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.* **2010**, *62*, 973–979, doi:10.1590/S0102-09352010000400029.
14. Andrews, S. *FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data*; Babraham Bioinformatics, Babraham Institute.; Cambridge, United Kingdom, 2010;
15. Bolger, A.M.; Lohse, M.; Usadel, B. Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics* **2014**, *30*, 2114–2120, doi:10.1093/bioinformatics/btu170.
16. Coil, D.; Jospin, G.; Darling, A.E. A5-Miseq: An Updated Pipeline to Assemble Microbial Genomes from Illumina MiSeq Data. *Bioinformatics* **2015**, *31*, 587–589, doi:10.1093/bioinformatics/btu661.
17. Bateman, A. UniProt: A Worldwide Hub of Protein Knowledge. *Nucleic Acids Res.* **2019**,

- 2134 47, D506–D515, doi:10.1093/nar/gky1049.
- 2135 18. Zankari, E.; Hasman, H.; Cosentino, S.; Vestergaard, M.; Rasmussen, S.; Lund, O.;
- 2136 Aarestrup, F.M.; Larsen, M. V. Identification of Acquired Antimicrobial Resistance
- 2137 Genes. *J. Antimicrob. Chemother.* **2012**, *67*, 2640–2644, doi:10.1093/jac/dks261.
- 2138 19. Aarestrup, F.M. The Livestock Reservoir for Antimicrobial Resistance: A Personal View
- 2139 on Changing Patterns of Risks, Effects of Interventions and the Way Forward. *Philos.*
- 2140 *Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **2015**, *370*, doi:10.1098/rstb.2014.0085.
- 2141 20. Van Boeckel, T.P.; Pires, J.; Silvester, R.; Zhao, C.; Song, J.; Criscuolo, N.G.; Gilbert,
- 2142 M.; Bonhoeffer, S.; Laxminarayan, R. Global Trends in Antimicrobial Resistance in
- 2143 Animals in Low- And Middle-Income Countries. *Science (80-.)*. **2019**, *365*,
- 2144 doi:10.1126/science.aaw1944.
- 2145 21. Alali, Walid Q. Thakur, S.; Berghaus, Roy D. Martin, Michael P. Gebreyes, W.A.
- 2146 Prevalence and Distribution of *Salmonella* in Organic and Conventional Broiler Poultry
- 2147 Farms. *Foodborne Pathog. Dis.* **2010**, *7*, 1363–1371, doi:10.1089/fpd.2010.0566.
- 2148 22. Jonathan R Iredell;; Sally R. Partridge *Understanding the Shared Bacterial Genome*;
- 2149 Springer US, 2010;
- 2150 23. Arias, C.A.; Murray, B.E. The Rise of the Enterococcus: Beyond Vancomycin
- 2151 Resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* **2012**, *10*, 266–278, doi:10.1038/nrmicro2761.
- 2152 24. Fiore, E.; van Tyne, D.; Gilmore, M.S. Pathogenicity of Enterococci. *Gram-Positive*
- 2153 *Pathog.* **2019**, *7*, 378–397, doi:10.1128/9781683670131.ch24.
- 2154 25. Verheijden, J.H.; Pijpers, A.; Schoevers, E.J.; Van Gogh, H.; Van Leengoed, L.A.;
- 2155 Visser, I.J.; Van Miert, A.S. The Influence of Disease on Feed and Water Consumption
- 2156 and on Pharmacokinetics of Orally Administered Oxytetracycline in Pigs. *J. Anim. Sci.*
- 2157 **1991**, *69*, 2647–2954.
- 2158 26. Nielsen, P.; Gyrd-Hansen, N. Bioavailability of Oxytetracycline, Tetracycline and
- 2159 Chlortetracycline after Oral Administration to Fed and Fasted Pigs. *J. Vet. Pharmacol.*
- 2160 *Ther.* **1996**, *19*, 305–311, doi:10.1111/j.1365-2885.1996.tb00054.x.
- 2161 27. Herrick, J.B.; Haynes, R.; Heringa, S.; Brooks, J.M.; Sobota, L.T. Coselection for
- 2162 Resistance to Multiple Late-Generation Human Therapeutic Antibiotics Encoded on
- 2163 Tetracycline Resistance Plasmids Captured from Uncultivated Stream and Soil
- 2164 Bacteria. *J. Appl. Microbiol.* **2014**, *117*, 380–389, doi:10.1111/jam.12538.
- 2165 28. Ribeiro, A.R.; Kellermann, A.; Dos Santos, L.R.; Bessa, M.C.; Do Nascimento, V.P.
- 2166 *Salmonella* Spp. in Raw Broiler Parts: Occurrence, Antimicrobial Resistance Profile and
- 2167 Phage Typing of the *Salmonella* Enteritidis Isolates. *Brazilian J. Microbiol.* **2007**, *38*,
- 2168 296–299, doi:10.1590/S1517-83822007000200021.
- 2169 29. Liu, Z.; Wang, Y.; Walsh, T.R.; Liu, D.; Shen, Z.; Zhang, R.; Yin, W.; Yao, H.; Li, J.;
- 2170 Shen, J. Crossm Encoding a Carbapenemase with Enhanced Activity in a Sequence.
- 2171 *Antimicrob Agents Chemother* **2017**, *61*, 1–9.
- 2172 30. Pulss, S.; Semmler, T.; Prenger-Berninghoff, E.; Bauerfeind, R.; Ewers, C. First Report
- 2173 of an *Escherichia coli* Strain from Swine Carrying an OXA-181 Carbapenemase and the
- 2174 Colistin Resistance Determinant MCR-1. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2017**, *50*, 232–236,
- 2175 doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.03.014.
- 2176 31. Putensen, C.; Ellger, B.; Sakka, S.G.; Weyland, A.; Schmidt, K.; Zoller, M.; Weiler, N.;
- 2177 Kindgen-Milles, D.; Jaschinski, U.; Weile, J.; et al. Current Clinical Use of Intravenous
- 2178 Fosfomycin in ICU Patients in Two European Countries. *Infection* **2019**, *47*, 827–836,
- 2179 doi:10.1007/s15010-019-01323-4.
- 2180 32. Mattioni Marchetti, V.; Hrabak, J.; Bitar, I. Fosfomycin Resistance Mechanisms in
- 2181 Enterobacterales: An Increasing Threat. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2023**, *13*, 1–25,
- 2182 doi:10.3389/fcimb.2023.1178547.
- 2183 33. rez, D.; No author, N. author; No author, N. author; Tapia, M.; Soraci, and Fosfomycin:
- 2184 Uses and Potentialities in Veterinary Medicine. *Open Vet. J.* **2014**, *5*, 26,
- 2185 doi:10.5455/ovj.2014.v4.i1.p26.
- 2186 34. Gillespie, S.H. The Role of Moxifloxacin in Tuberculosis Therapy. *Eur. Respir. Rev.*
- 2187 **2016**, *25*, 19–28, doi:10.1183/16000617.0085-2015.
- 2188 35. Bush, N.G.; Diez-Santos, I.; Abbott, L.R.; Maxwell, A. Quinolones: Mechanism, Lethality

- and Their Contributions to Antibiotic Resistance. *Molecules* **2020**, *25*, doi:10.3390/molecules25235662.
36. Oliphant, C.M.; Green, G.M. Quinolones: A Comprehensive Review. *Am. Fam. Physician* **2002**, *65*, 455–464.
 37. EMEA/H/A-31/1452 Quinolone- and Fluoroquinolone-Containing Medicinal Products | European Medicines Agency. *EMA Eur. Med. Agency* **2019**, *31*, 12.
 38. Levine, D.P. Vancomycin : A History. **2006**, *42*, 5–12.
 39. Filippone, E.J.; Kraft, W.K.; Farber, J.L. The Nephrotoxicity of Vancomycin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2017**, *102*, 459–469, doi:10.1002/cpt.726.
 40. Hazlewood, K.A.; Brouse, S.D.; Pitcher, W.D.; Hall, R.G. Vancomycin-Associated Nephrotoxicity: Grave Concern or Death by Character Assassination? *Am. J. Med.* **2010**, *123*, 1–11, doi:10.1016/j.amjmed.2009.05.031.
 41. Cong, Y.; Yang, S.; Rao, X. Vancomycin Resistant Staphylococcus Aureus Infections: A Review of Case Updating and Clinical Features. *J. Adv. Res.* **2020**, *21*, 169–176, doi:10.1016/j.jare.2019.10.005.
 42. Brown, N.M.; Goodman, A.L.; Horner, C.; Jenkins, A.; Brown, E.M. Treatment of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA): Updated Guidelines from the UK. *JAC-Antimicrobial Resist.* **2021**, *3*, doi:10.1093/jacamr/dlaa114.
 43. Choo, E.J.; Chambers, H.F. Treatment of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Bacteremia. *Infect. Chemother.* **2016**, *48*, 267–273, doi:10.3947/ic.2016.48.4.267.
 44. Vemula, P.K.; Cruikshank, G.A.; Karp, J.M.; John, G. Self-Assembled Prodrugs: An Enzymatically Triggered Drug-Delivery Platform. *Biomaterials* **2009**, *30*, 383–393, doi:10.1016/j.biomaterials.2008.09.045.

CAPÍTULO 3

2231

2232

2233

2234

2235

2236

2237

2238

2239

2240

2241

2242

2243

2244

2245

2246

2247

2248

2249

2250

2251

2252

2253

2254

2255

2256

2257

2258 Considerações Finais

2259
2260 Em conclusão, este estudo fornece uma análise comparativa sistemas
2261 convencionais e sem a utilização de antibióticos de produção de frangos de corte, com
2262 foco na frequência e perfis de resistências fenotípico e genotípico apresentados pelos
2263 isolados de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. obtidos dos frangos
2264 comprados em estabelecimentos comerciais de Botucatu, São Paulo, Brasil.

2265 Nossos resultados destacam que, além de os sistemas de produção sem
2266 antibióticos não estarem associados a uma menor resistência antimicrobiana, eles,
2267 por si só, não são uma solução definitiva para combater a resistência. Isso ressalta a
2268 necessidade de uma abordagem multifacetada que vá além da simples substituição
2269 de práticas convencionais por sem uso de antimicrobianos. A implementação de
2270 estratégias integradas, que combinem práticas sustentáveis com medidas rigorosas
2271 de controle e monitoramento, pode ser mais eficaz na redução da prevalência de
2272 bactérias resistentes na produção avícola.

2273 Além da produção *antibiotic-free*, é fundamental promover programas de
2274 vigilância e monitoramento da resistência antimicrobiana ao longo de toda a cadeia
2275 de produção de frangos de corte. A detecção precoce de cepas resistentes e a
2276 identificação de padrões de resistência são essenciais para orientar intervenções
2277 direcionadas e medidas de controle mais eficazes. Também é crucial incentivar o uso
2278 responsável de antimicrobianos, tanto na medicina veterinária quanto na saúde
2279 humana. Estratégias que visem reduzir a administração desnecessária e
2280 indiscriminada de antibióticos, promover boas práticas de manejo e implementar
2281 programas de biossegurança são essenciais para prevenir o desenvolvimento e a
2282 disseminação da resistência antimicrobiana.

2283 Além disso, investir em pesquisa e desenvolvimento de novas alternativas
2284 terapêuticas e medidas de controle é vital para enfrentar esse desafio complexo. A
2285 descoberta de novos compostos antimicrobianos, o desenvolvimento de vacinas e
2286 terapias alternativas, bem como a investigação de abordagens inovadoras, podem
2287 oferecer novas perspectivas na luta contra a resistência antimicrobiana.

2288 Em resumo, embora a produção avícola sem o uso de antimicrobianos possa
2289 desempenhar um papel relevante na mitigação da resistência antimicrobiana, é
2290 essencial adotar uma abordagem holística que envolva vigilância, controle do uso de
2291 antimicrobianos, boas práticas de manejo e investimento em pesquisa e

2292 desenvolvimento. Apenas através de esforços coordenados e estratégias integradas
2293 podemos enfrentar efetivamente esse problema crescente e preservar a eficácia dos
2294 antimicrobianos para as gerações futuras.

2295

2296

2297

2298

2299

2300

2301

2302

2303