

## **RESSALVA**

**Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 19/12/2027.**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA FACULDADE DE  
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**ANÁLISE METAGENÔMICA DOS EFLUENTES DE ABATEDOUROS DE  
FRANGO DE CORTE COMO AÇÃO DE VIGILÂNCIA NA PERSPECTIVA DE  
SAÚDE ÚNICA**

EVELYN CRISTINE DA SILVA

Botucatu – SP

2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**ANÁLISE METAGENÔMICA DOS EFLUENTES DE ABATEDOUROS DE  
FRANGO DE CORTE COMO AÇÃO DE VIGILÂNCIA NA PERSPECTIVA DE  
SAÚDE ÚNICA**

EVELYN CRISTINE DA SILVA

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária para obtenção do título de Doutora  
em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Sossai Possebon

S586a

Silva, Evelyn Cristine da

Análise metagenômica dos efluentes de abatedouros de frango de corte como ação de vigilância na perspectiva de Saúde Única. / Evelyn Cristine da Silva. -- Botucatu, 2026  
135 p.

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

Orientador: João Pessoa Araújo Junior

Coorientador: Fábio Sossai Possebon

1. Resistência antimicrobiana. 2. Metagenômica de águas residuais. 3. Sequenciamento de nova geração. 4. Produção avícola. 5. Saúde Única. I. Título.

**Nome:** Evelyn Cristine da Silva

**Título:** Análise metagenômica dos efluentes de abatedouros de frango de corte como ação de vigilância na perspectiva de Saúde Única

**COMISSÃO EXAMINADORA**

Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior

Presidente e orientador

Departamento de Ciências Químicas e Biológicas, Instituto de Biociências

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

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira

Membro Titular

Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Prof. Dr. Felipe Machado de Santanna

Membro Titular

College of Agricultural and Life Sciences

University of Vermont (UVM)

Prof. Dr. Marcus Vinícius Coutinho Cossi

Membro Titular

Departamento de Medicina Veterinária

Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Prof. Dr. Juliano Gonçalves Pereira

Membro Titular

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)

Data da defesa da tese: 19 de junho de 2026.

*Dedico esta tese às minhas avós, Ivete e Dalva, e aos meus avôs, Altevir e Paulo, pelo afeto,  
pela ternura e pelo amor que marcaram minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Edson e Elis, pelo amor, pelo apoio e pelo incentivo constantes. À minha avó materna, Ivete, sou profundamente grata pelo cuidado, pela presença e por ter sido meu amparo em tantos momentos. Ao meu companheiro, Bruno, agradeço pelo carinho, pela paciência, pela força e por compartilhar a vida comigo. Estendo meus agradecimentos a toda a minha família, em especial às minhas madrinhas, Elaine, Viviane e Célia, por serem sempre fonte de afeto e conforto.

Às minhas amigas, May, Su, Ana, Mari, Ka e Gabi, agradeço por tornarem a caminhada mais leve, pelas risadas e conversas. Dedico também meu carinho a todas as amigas do IBTEC e do SOAP, mulheres inspiradoras que, além de brilhantes cientistas, tornaram-se companheiras importantes nesta jornada. Em especial, agradeço à Carol e à Manu, pelo companheirismo, pelo apoio generoso e pela inspiração que vocês representam para mim.

Agradeço ao meu orientador, Prof. João Pessoa, pelo apoio e pela disponibilidade ao longo do mestrado e do doutorado. Sua dedicação aos projetos, sua generosidade em abrir caminhos e sua forma de incentivar novas ideias são uma grande inspiração para mim. Ao meu coorientador, Prof. Fábio, Cid, agradeço pela tranquilidade, pela paciência e pela disponibilidade em me auxiliar sempre que precisei. Sou muito grata pela generosidade em compartilhar seu conhecimento e por todo o incentivo.

Agradeço a todos os meus professores e, em especial, às professoras da UFPR, Vivien Midori, Julia Arantes e Simone Tostes por terem sido inspirações como pesquisadoras e docentes ao longo da minha graduação. Foi uma honra aprender com vocês.

Estendo meus agradecimentos aos professores da UNESP-FMVZ, pela contribuição à minha trajetória acadêmica, e aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade, pela atenção e pelas contribuições a este trabalho. Registro também meu agradecimento à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Câmpus de Botucatu, ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e a todos os seus docentes e técnicos.

À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, agradeço pela concessão da bolsa que viabilizou este projeto de pesquisa, vinculada ao Processo 2023/009693. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Por fim, agradeço a todos que, de algum modo, fizeram parte desta etapa tão significativa da minha trajetória.

## LISTA DE TABELAS

### *Capítulo 2*

|                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Table 1. Shared and system-specific core components of the microbiome and resistome in conventional and antibiotic-free poultry slaughterhouse effluents..... | 68 |
| Supplementary Table S1. Sampling design and temporal distribution of final effluent samples from poultry slaughterhouses. ....                                | 87 |
| Supplementary Table S2. Sequencing quality metrics for metagenomic effluent samples.....                                                                      | 88 |
| Supplementary Table S3. Metagenomic assembly statistics and taxonomic classification results for effluent samples. ....                                       | 88 |
| Supplementary Table S4. Differentially abundant microbiome and resistome features with the greatest absolute log fold change shown in Figure 3.....           | 92 |
| Supplementary Table S5. Summary of alpha and beta diversity statistics for the bacterial microbiome and resistome.....                                        | 93 |
| Supplementary Table S6. Microbiome–resistome association across taxonomic and resistome levels in poultry slaughterhouse final effluents. ....                | 93 |

### *Capítulo 3*

|                                                                                                                                                                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Table 1. MOB-suite-predicted plasmid units, mobility features, conjugative elements, and replicon profiles in <i>Escherichia coli</i> and <i>Salmonella enterica</i> isolates recovered from treated final poultry slaughterhouse effluent..... | 113 |
| Supplementary Table S1 . Quality, taxonomic, and genomic characterization metrics of the bacterial isolates analyzed, including BUSCO, CheckM, N50, GC content, ANI, AF, MLST, serotyping, and phylogenetic grouping. ....                      | 124 |
| Supplementary Table S2. Phenotypic antimicrobial susceptibility profiles, AMRFinderPlus-annotated elements, functional class counts, and plasmid replicons detected.....                                                                        | 128 |
| Supplementary Table S3. Summary of plasmid units predicted by MOB-suite, including contig number, size, replicons, relaxases, mating pair formation systems, oriT, mobility classification, and predicted host range .....                      | 132 |

## LISTA DE FIGURAS

### *Capítulo 2*

|                                                                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1. Total ARG load and distribution of ARG types in treated final effluents from conventional and antibiotic-free poultry slaughterhouses .....                                               | 64 |
| Figure 2. Shared and system-specific bacterial orders and ARG types in treated final effluents from conventional and antibiotic-free poultry slaughterhouses.....                                   | 67 |
| Figure 3. Differential abundance profiles of the bacterial microbiome and resistome in treated final effluents from conventional and antibiotic-free poultry slaughterhouses.....                   | 71 |
| Figure 4. Overlap between core components and differential abundance in the microbiome and resistome of post-treatment effluents from conventional and antibiotic-free poultry slaughterhouses..... | 74 |
| Figure 5. Alpha and beta diversity of the bacterial microbiome in conventional and antibiotic-free poultry slaughterhouse effluents .....                                                           | 76 |
| Figure 6. Alpha and beta diversity of the resistome in conventional and antibiotic-free poultry slaughterhouse effluents .....                                                                      | 77 |
| Figure 7. Microbiome–resistome association in poultry slaughterhouse final effluents.....                                                                                                           | 79 |

### *Capítulo 3*

|                                                                                                                                                                                                                                           |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 1. Heatmap of phenotypic antimicrobial susceptibility profiles, AMRFinderPlus-annotated genes, and plasmid replicons detected in bacterial isolates from poultry slaughterhouse effluent.....                                      | 109 |
| Figure 2. Sankey diagram of MOB-suite-predicted plasmid units showing their distribution across bacterial isolates recovered from treated final poultry slaughterhouse effluent, predicted mobility classes, and inferred host range..... | 111 |

## LISTA DE ABREVIACÕES

16S rRNA – RNA ribossomal 16S

AF – Fração de alinhamento

AMR – Resistência antimicrobiana

ANI – Identidade nucleotídica média

ARG – Gene de resistência a antibiótico

AST – Teste de suscetibilidade antimicrobiana

BPW – Água peptonada tamponada

bp/pb – Pares de bases

BS – Ágar sulfito de bismuto

DBO – Demanda bioquímica de oxigênio

ddNTPs – Didesoxinucleotídeos

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DQO – Demanda química de oxigênio

dsDNA – DNA de fita dupla

EIEC – *Escherichia coli* enteroinvasiva

ESBL – Beta-lactamase de espectro estendido

FDR – Taxa de falsas descobertas

GC – Conteúdo guanina-citosina

GITC – Isotiocianato de guanidina

IQR – Intervalo interquartil

kb – Quilobases

MAG – Genoma montado a partir de metagenoma

MDR – Multirresistente

MGE – Elemento genético móvel

MKTTn – Caldo Muller-Kauffmann tetracionato-novobiocina

MLS – Macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas

N50 – Métrica de continuidade em que 50% do *assembly* está contido em contigs desse tamanho ou maiores

N90 – Métrica de continuidade em que 90% do *assembly* está contido em contigs desse tamanho ou maiores

NAE – Sem uso de antibióticos

NAIHM – Sem uso de antibióticos importantes para a medicina humana

NF – Livre de nucleases

NGS – Sequenciamento de nova geração

oriT – Origem de transferência

PCoA – Análise de coordenadas principais

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PERMANOVA – Análise multivariada permutacional de variância

PERMDISP – Análise permutacional de dispersões multivariadas

PROTEST – Teste de randomização procrustiana

Q20 – Percentual de bases com qualidade Phred igual ou superior a 20

Q30 – Percentual de bases com qualidade Phred igual ou superior a 30

RAM – Resistência antimicrobiana

RVS – Caldo Rappaport-Vassiliadis Soja

SST – Sólidos suspensos totais

ST – Tipo de sequência

STEC – *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga

TBX – Ágar triptona bile X-glucuronídeo

TSB – Caldo triptona de soja

WGS – Sequenciamento do genoma completo

XLD – Ágar xilose lisina desoxicolato

## SUMÁRIO

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMO .....                                                                           | 12 |
| ABSTRACT .....                                                                         | 14 |
| CAPÍTULO 1 .....                                                                       | 16 |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                     | 17 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....                                                         | 19 |
| 2.1 Caracterização dos efluentes da produção animal .....                              | 19 |
| 2.1.1 Produção avícola, sistemas produtivos e geração de efluentes .....               | 19 |
| 2.1.2 Composição e enquadramento regulatório dos efluentes de abatedouros.....         | 22 |
| 2.1.3 Efluentes de abatedouros como reservatórios de microrganismos e ARGs.....        | 25 |
| 2.2 Sequenciamento genético aplicado a efluentes de abatedouros.....                   | 28 |
| 2.2.1 Tecnologias de sequenciamento genético .....                                     | 28 |
| 2.2.2 Metagenômica .....                                                               | 29 |
| 2.2.3 Microbioma em efluentes.....                                                     | 32 |
| 2.2.4 Resistoma em efluentes.....                                                      | 34 |
| 2.2.5 Sequenciamento do genoma completo de isolados bacterianos.....                   | 38 |
| 2.3 Vigilância de efluentes na perspectiva da Saúde Única .....                        | 40 |
| 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                    | 43 |
| 4. OBJETIVOS.....                                                                      | 53 |
| 4.1 Objetivos específicos .....                                                        | 53 |
| CAPÍTULO 2 .....                                                                       | 54 |
| Abstract.....                                                                          | 56 |
| 1. Introduction .....                                                                  | 57 |
| 2. Materials and Methods .....                                                         | 60 |
| 2.1 Study area and sampling .....                                                      | 60 |
| 2.2 DNA extraction and quality assessment .....                                        | 60 |
| 2.3 Library preparation and sequencing .....                                           | 61 |
| 2.4 Bioinformatics analyses .....                                                      | 61 |
| 2.5 Statistical analyses .....                                                         | 61 |
| 2.5.1 Resistome abundance .....                                                        | 61 |
| 2.5.2 Core and system-specific components .....                                        | 62 |
| 2.5.3 Differential abundance analysis .....                                            | 62 |
| 2.5.4 Alpha and beta diversity.....                                                    | 62 |
| 2.5.5 Microbiome–resistome association .....                                           | 63 |
| 3. Results and Discussion .....                                                        | 63 |
| 3.1 Sequencing output and metagenomic profiling overview .....                         | 63 |
| 3.2 Differential ARG burden between production systems.....                            | 63 |
| 3.3 Shared and system-specific microbiome and resistome cores.....                     | 65 |
| 3.4 Differential abundance of microbiome and resistome across production systems ..... | 70 |

|                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.5 Integration of core components and differential abundance patterns in the microbiome and resistome ..... | 73  |
| 3.6 Alpha and beta diversity patterns of the microbiome and resistome.....                                   | 75  |
| 3.7 Association between microbiome and resistome composition .....                                           | 78  |
| 3.8 One Health implications of final effluents as AMR surveillance matrices .....                            | 79  |
| 4. Conclusion .....                                                                                          | 80  |
| 5. Declaration.....                                                                                          | 80  |
| 6. References .....                                                                                          | 81  |
| 7. Supplementary Material .....                                                                              | 87  |
| CAPÍTULO 3 .....                                                                                             | 94  |
| Abstract.....                                                                                                | 96  |
| 1. Introduction .....                                                                                        | 97  |
| 2. Materials and methods.....                                                                                | 100 |
| 2.1 Study area and sampling .....                                                                            | 100 |
| 2.2 Bacterial isolation and phenotypic antimicrobial resistance characterization .....                       | 100 |
| 2.3 DNA extraction and quality assessment .....                                                              | 101 |
| 2.4 Library preparation and sequencing .....                                                                 | 102 |
| 2.5 Genome assembly, annotation, and genomic analysis.....                                                   | 102 |
| 2.5.1 Genome assembly and quality assessment.....                                                            | 102 |
| 2.5.2 Taxonomic classification and genomic characterization.....                                             | 102 |
| 2.5.3 Functional annotation .....                                                                            | 103 |
| 3. Results and Discussion .....                                                                              | 103 |
| 4. References .....                                                                                          | 115 |
| 5. Supplementary Material .....                                                                              | 123 |
| CAPÍTULO 4 .....                                                                                             | 133 |
| Considerações finais .....                                                                                   | 134 |

SILVA, E. C. **Análise metagenômica dos efluentes de abatedouros de frango de corte como ação de vigilância na perspectiva de Saúde Única**. Botucatu, 2026. 135 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Câmpus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

Os efluentes de abatedouros avícolas representam uma interface direta entre a produção industrial e o ambiente, podendo contribuir para a disseminação de microrganismos potencialmente patogênicos e genes de resistência antimicrobiana (ARGs), o que reforça a importância do seu monitoramento. Neste contexto, este estudo observacional longitudinal caracterizou, por metagenômica shotgun, 16 amostras de efluentes finais tratados coletadas em dois abatedouros de frangos de corte selecionados por conveniência, representando os sistemas convencional e livre de antibióticos, além de avaliar, por sequenciamento completo do genoma (SCG), 19 isolados bacterianos recuperados de efluentes finais tratados do sistema convencional. As amostras foram coletadas entre julho/2023 e junho/2025 no estado de São Paulo, Brasil. O DNA foi extraído das amostras, seguido do preparo das bibliotecas e do sequenciamento metagenômico *shotgun* por sequenciamento de nova geração. As análises bioinformáticas empregaram CAT/RAT v6.0 para inferência taxonômica, ARGs-OAP v3.0 para caracterização do resistoma e Bactopia v3.2.0 para análise genômica dos isolados. A caracterização metagenômica do microbioma e do resistoma evidenciou maior sobreposição entre componentes recorrentes e táxons ou genes diferencialmente abundantes no sistema convencional. Onze das 12 ordens recorrentes também foram mais abundantes nesse sistema, incluindo Aeromonadales, Eubacteriales e Fusobacteriales. Em nível de gênero, cinco dos 12 gêneros recorrentes também foram mais abundantes no sistema convencional, incluindo *Aeromonas*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterococcus* e *Prevotella*. No resistoma, 47 dos 76 subtipos mais abundantes no sistema convencional também foram recorrentes, incluindo *tet(M)*, *tet(E)*, *tet(36)*, *lnu(D)*, *dfrA3* e *blaOXA-12*. No sistema livre de antibióticos, os táxons diferencialmente abundantes não se sobrepuseram a componentes recorrentes específicos, enquanto cinco dos seis subtipos recorrentes também foram mais abundantes nesse sistema, incluindo *RbpA*, *efpA*, *tap*, *tet(V)* e *bpeF*. A diversidade alfa do microbioma não diferiu entre os sistemas, mas a diversidade beta separou as amostras em ordem e gênero pela dissimilaridade de Bray-Curtis ( $R^2 \geq 0,442$ ;  $p = 0,002$ ). O resistoma apresentou maior diversidade alfa no sistema convencional nos níveis de tipo e subtipo ( $p < 0,05$ ), além de separação composicional

em tipo pela dissimilaridade de Bray-Curtis ( $R^2 = 0,554$ ;  $p = 0,002$ ). A abundância total de ARGs também foi maior no sistema convencional em relação ao sistema livre de antibióticos, com medianas de 2,78 e 0,37 cópias de ARGs/célula, respectivamente ( $p < 0,001$ ). A associação entre microbioma e resistoma foi consistente pelos testes Procrustes e Mantel ( $p < 0,05$ ), indicando que a variação bacteriana acompanhou a organização dos perfis de resistência. A análise por SCG confirmou 16 isolados de *Escherichia coli* e três de *Salmonella enterica*, com *E. coli* distribuída em 10 STs e *Salmonella enterica* representada pelos sorovares Anatum e Minnesota. A avaliação fenotípica indicou resistência multidroga em 78,9% dos isolados (15/19), com maiores frequências de resistência ao cloranfenicol, tetraciclina, amoxicilina e ampicilina. No nível genômico, foram identificados 100 genes distintos, totalizando 401 detecções, com predomínio de marcadores de resposta ao estresse (45,4%; 182/401), genes de resistência antimicrobiana (29,4%; 118/401) e genes associados à virulência (25,2%; 101/401). Entre os genes de resistência, *acrF*, *blaEC*, *emrD* e *mdtM* foram os mais frequentes, detectados em 84,2% dos isolados (16/19), seguidos por *floR* e *tet(A)*, ambos presentes em 31,6% dos isolados (6/19). A análise de plasmídeos e mobilidade genética identificou sete associações entre genes de resistência e replicons plasmidiais, incluindo *qnrB/qnrB19*–Col440I, *floR*–IncFII(pCoo), *blaTEM-1*–IncN e *dfrA51*–IncFIB(pLF82), além de 30 estruturas plasmidiais preditas em 11 isolados. Entre *E. coli*, um isolado se destacou pela combinação de *qnrB19*–Col440I, *floR*–IncFII(pCoo), múltiplos replicons plasmidiais, incluindo IncFIB, IncFIC, IncHI1B e Col(MG828), e unidades com potencial de mobilização. Entre *Salmonella enterica*, um isolado pertencente ao sorovar Minnesota ST548 apresentou simultaneamente *blaCMY-2*, *qnrB19*, *sul2* e *tet(A)*, além de uma unidade mobilizável associada a IncC e uma unidade conjugativa sem replicon atribuído. Em conjunto, as diferenças observadas na abundância de genes de resistência antimicrobiana entre os efluentes de abatedouros avícolas convencionais e aqueles provenientes de aves criadas sem uso de antibióticos indicam que essa matriz pode ser relevante para o monitoramento da resistência antimicrobiana na indústria avícola. Além disso, a integração dos dados da comunidade bacteriana, do resistoma e dos perfis genômicos das bactérias recuperadas dessa matriz demonstra que os efluentes finais tratados podem reunir informações complementares sobre a interface entre produção animal, processamento industrial e ambiente.

**Palavras-chave:** Resistência antimicrobiana; Sequenciamento de nova geração; Ecologia microbiana; Genes de resistência; Produção avícola.

SILVA, E. C. **Metagenomic analysis of broiler chicken slaughterhouse effluents as a surveillance action from a One Health perspective**. Botucatu, 2026. 135 p. Thesis – School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University.

## ABSTRACT

Poultry slaughterhouse effluents represent a direct interface between industrial production and the environment, potentially contributing to the dissemination of potentially pathogenic microorganisms and antimicrobial resistance genes (ARGs), which reinforces the importance of their monitoring. In this context, this observational longitudinal study characterized, using shotgun metagenomics, 16 treated final effluent samples collected from two convenience-selected broiler slaughterhouses representing conventional and antibiotic-free production systems, and evaluated, by whole-genome sequencing (WGS), 19 bacterial isolates recovered from treated final effluents of the conventional system. The samples were collected between July 2023 and June 2025 in São Paulo State, Brazil. DNA was extracted from the samples, followed by library preparation and shotgun metagenomic sequencing using next-generation sequencing. Bioinformatic analyses employed CAT/RAT v6.0 for taxonomic inference, ARGs-OAP v3.0 for resistome characterization, and Bactopia v3.2.0 for genomic analysis of the isolates. Metagenomic characterization of the microbiome and resistome showed greater overlap between recurrent components and differentially abundant taxa or genes in the conventional system. Eleven of the 12 recurrent orders were also more abundant in this system, including Aeromonadales, Eubacteriales, and Fusobacteriales. At the genus level, five of the 12 recurrent genera were also more abundant in the conventional system, including *Aeromonas*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterococcus*, and *Prevotella*. In the resistome, 47 of the 76 subtypes with higher abundance in the conventional system were also recurrent, including *tet(M)*, *tet(E)*, *tet(36)*, *lnu(D)*, *dfrA3*, and *blaOXA-12*. In the antibiotic-free system, differentially abundant taxa did not overlap with system-specific recurrent components, whereas five of the six recurrent subtypes were also more abundant in this system, including *RbpA*, *efpA*, *tap*, *tet(V)*, and *bpeF*. Microbiome alpha diversity did not differ between systems, but beta diversity separated samples at the order and genus levels based on Bray-Curtis dissimilarity ( $R^2 \geq 0.442$ ;  $p = 0.002$ ). The resistome showed higher alpha diversity in the conventional system at both type and subtype levels ( $p < 0.05$ ), as well as compositional separation at the type level based on Bray-Curtis dissimilarity ( $R^2 = 0.554$ ;  $p = 0.002$ ). Total ARG abundance was also higher in the conventional system than in the antibiotic-free system, with medians of 2.78 and 0.37 ARG

copies/cell, respectively ( $p < 0.001$ ). The association between microbiome and resistome profiles was consistent in Procrustes and Mantel tests ( $p < 0.05$ ), indicating that bacterial variation accompanied the organization of resistance profiles. WGS analysis confirmed 16 isolates of *Escherichia coli* and three of *Salmonella enterica*, with *E. coli* distributed across 10 STs and *Salmonella enterica* represented by serovars Anatum and Minnesota. Phenotypic assessment indicated multidrug resistance in 78.9% of the isolates (15/19), with the highest resistance frequencies observed for chloramphenicol, tetracycline, amoxicillin, and ampicillin. At the genomic level, 100 distinct genes were identified, totaling 401 detections, with a predominance of stress response markers (45.4%; 182/401), antimicrobial resistance genes (29.4%; 118/401), and virulence-associated genes (25.2%; 101/401). Among resistance genes, *acrF*, *blaEC*, *emrD*, and *mdtM* were the most frequent, detected in 84.2% of the isolates (16/19), followed by *floR* and *tet(A)*, both present in 31.6% of the isolates (6/19). Plasmid and genetic mobility analyses identified seven associations between resistance genes and plasmid replicons, including *qnrB/qnrB19*–Col440I, *floR*–IncFII(pCoo), *blaTEM-1*–IncN, and *dfrA51*–IncFIB(pLF82), as well as 30 predicted plasmid structures in 11 isolates. Among *E. coli*, one isolate stood out due to the combination of *qnrB19*–Col440I, *floR*–IncFII(pCoo), multiple plasmid replicons, including IncFIB, IncFIC, IncHI1B, and Col(MG828), and units with mobilization potential. Among *Salmonella enterica*, one isolate belonging to serovar Minnesota ST548 simultaneously carried *blaCMY-2*, *qnrB19*, *sul2*, and *tet(A)*, in addition to a mobilizable unit associated with IncC and a conjugative unit without an assigned replicon. Together, the observed differences in antimicrobial resistance gene abundance between effluents from conventional poultry slaughterhouses and those from birds raised without antibiotics indicate that this matrix may be relevant for monitoring antimicrobial resistance in the poultry industry. In addition, the integration of bacterial community, resistome, and genomic profiles of bacteria recovered from this matrix demonstrates that treated final effluents can provide complementary information on the interface among animal production, industrial processing, and the environment.

**Keywords:** Antimicrobial resistance; Next-generation sequencing; Microbial ecology; Resistance genes; Poultry production.

# CAPÍTULO 1

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil consolida-se como um dos maiores produtores e exportadores mundiais de carne de frango, posicionando a avicultura como um setor estratégico para o agronegócio nacional (KLEIN; LUNA, 2022; DOS SANTOS et al., 2023). Essa produção em larga escala depende do uso intensivo de água nos abatedouros, presente em praticamente todas as etapas operacionais do abate e do processamento, resultando na geração de grandes volumes de efluentes (FATIMA et al., 2021; NUNES et al., 2024). Devido à sua carga orgânica e microbiológica, esses resíduos podem atuar como fonte de disseminação de microrganismos e genes de resistência (ARGs) para o ambiente. A persistência parcial desses marcadores mesmo após etapas usuais de tratamento reforça a necessidade de priorizar abatedouros como alvos da vigilância ambiental (SAVIN et al., 2021a; DE FARIAS et al., 2024; NUNES et al., 2024).

Nesse contexto, a vigilância de águas residuais exige abordagens capazes de ir além dos indicadores convencionais de qualidade da água. As abordagens baseadas apenas em parâmetros físico-químicos e no isolamento microbiológico oferecem uma leitura parcial dos efluentes, pois não capturam de forma abrangente a complexidade do microbioma, do resistoma e da mobilidade genética associada a elementos genéticos móveis (EGMs) (PÉREZ-COBAS et al., 2020; ABREU et al., 2021; PARTRIDGE et al., 2018). Essa limitação é particularmente relevante em efluentes de abatedouros, nos quais estudos metagenômicos têm demonstrado a persistência de ARGs e MGEs mesmo após o tratamento, indicando que o monitoramento convencional pode subestimar componentes críticos do risco ambiental (SAVIN et al., 2021a; DE FARIAS et al., 2024). Desta forma, o sequenciamento metagenômico amplia a vigilância de águas residuais ao integrar, em uma mesma abordagem, a análise da comunidade microbiana, do resistoma e das mudanças na composição taxonômica, na abundância de genes de resistência antimicrobiana e na presença de elementos associados à mobilidade genética ao longo das etapas de tratamento. Essa abordagem permite avaliar a eficiência dos processos e identificar marcadores de resistência antimicrobiana com maior resolução ambiental (FANG et al., 2024; ZHANG et al., 2024; BEGMATOV et al., 2024). Apesar desse potencial, sua incorporação em estratégias de vigilância ainda requer cautela, considerando limitações técnicas, analíticas e econômicas relacionadas à padronização dos métodos, ao processamento bioinformático e à interpretação dos resultados (QUINCE et al., 2017; DAVIS et al., 2023).

Na cadeia avícola, a aplicação dessa abordagem ainda se concentra em matrizes como conteúdo intestinal, carcaças, superfícies de processamento, produtos finais, granjas, corpos

1 d'água receptores ou etapas específicas do tratamento, enquanto os efluentes finais de  
2 abatedouros permanecem menos explorados como matriz de vigilância (DE CESARE et al.,  
3 2022; SEQUINO et al., 2025; FANG et al., 2024; DE FARIAS et al., 2024). Esses resíduos são  
4 importantes porque reúnem sinais microbiológicos e genéticos do processamento industrial  
5 antes da descarga ambiental. Estudos baseados em 16S rRNA, metagenômica *shotgun* e  
6 metaplasmidoma demonstraram que efluentes avícolas abrigam comunidades microbianas  
7 complexas, ARGs e marcadores de mobilidade genética (DELFORNO et al., 2017; DE  
8 FARIAS et al., 2024). Além disso, análises metagenômicas de efluentes de abatedouros  
9 avícolas demonstram a presença de genes de resistência associados a plasmídeos e outros  
10 elementos genéticos móveis, indicando que essas matrizes podem atuar como reservatórios e  
11 potenciais disseminadores de resistência antimicrobiana no ambiente (DE FARIAS et al.,  
12 2025b). Esses achados sustentam seu uso como matriz estratégica para o monitoramento da  
13 RAM.

14 Embora os efluentes sejam relevantes para a vigilância da RAM, ainda é pouco claro se essa  
15 matriz reflete diferenças entre sistemas produtivos. Essa comparação foi investigada por  
16 metagenômica em outras matrizes da cadeia avícola, incluindo conteúdo cecal, carcaças, solo e  
17 cama aviária. De Cesare et al. (2022) observaram menor carga de genes de resistência  
18 antimicrobiana no ceco de aves criadas sem antibióticos em comparação ao sistema  
19 convencional, mas essa diferença não se manteve nas carcaças após o processamento. Em  
20 carcaças de varejo, a comparação entre sistemas convencional, orgânico e livre de antibióticos  
21 indicou que a restrição ao uso de antimicrobianos pode reduzir a abundância de genes de  
22 resistência, embora não elimine completamente o resistoma associado à cadeia avícola  
23 (VIEIRA et al., 2023). Em cadeias comerciais com uso restrito de antimicrobianos, a  
24 metagenômica *shotgun* indicou que microbioma e resistoma variam conforme o estágio  
25 produtivo, a empresa e o compartimento amostrado, incluindo solo, cama aviária e carcaças  
26 (GAONKAR et al., 2026). Esses estudos metagenômicos demonstram que comparações entre  
27 sistemas produtivos são importantes para ampliar a compreensão da resistência antimicrobiana  
28 (RAM) na cadeia avícola.

29 Além da metagenômica, métodos baseados em isolamento também são relevantes para a  
30 vigilância de efluentes, pois permitem recuperar bactérias viáveis e avaliar seus perfis de  
31 resistência, capturando uma dimensão complementar do risco sanitário e ambiental (NUNES et  
32 al., 2024; SAVIN et al., 2020a). Assim, o Sequenciamento de Genoma Completo (SCG) de  
33 isolados bacterianos amplia essa abordagem ao associar genes de resistência, plasmídeos,

1 linhagens clonais e determinantes de virulência a microrganismos específicos (ONICIUC et al.,  
2 2018; PEÑA et al., 2024).

3 Estudos com águas de processo e efluentes de abatedouros frigoríficos indicam que o SCG  
4 complementa a vigilância baseada em cultivo ao detalhar, em nível genômico, genes de  
5 resistência, fatores de virulência, plasmídeos e elementos associados à mobilização genética.  
6 Essa abordagem complementa a metagenômica shotgun, que caracteriza o resistoma total da  
7 matriz, mas nem sempre permite atribuir esses marcadores a hospedeiros específicos (SAVIN  
8 et al., 2020a; SAVIN et al., 2021b; KLEIST et al., 2025).

9 Apesar da importância dos efluentes de abatedouros, pouco se sabe sobre como diferentes  
10 sistemas de produção impactam sua microbiota, o resistoma e o perfil genômico dos isolados  
11 bacterianos. Essa lacuna limita o entendimento sobre o papel desses resíduos na disseminação  
12 da RAM. Portanto, a caracterização metagenômica e genômica desses efluentes pode subsidiar  
13 estratégias de monitoramento e mitigação da RAM na interface entre animais, ambiente e seres  
14 humanos.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, M.; GREIGE, S.; BEYENAL, H.; HARB, M.; WAZNE, M. Investigating microbial dynamics and potential advantages of anaerobic co-digestion of cheese whey and poultry slaughterhouse wastewaters. *Scientific Reports*, v. 12, art. 10529, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-14425-1.
- ABELLAN-SCHNEYDER, I.; MATCHADO, M. S.; REITMEIER, S.; SOMMER, A.; SEIFERT, J.; WITZENRATH, M.; BIRKELAND, N. K.; BERGER, B.; GUTSMANN, T.; HAUSER, A.; NEUHAUS, K.; SCHMITZ, R. A.; SCHULTE, D. M.; TISSIER, A.; TRAULSEN, A.; WAGNER-DÖBLER, I.; WETZEL, K.; HÜTTER, M. C.; WALTER, J.; SCHMIDT, T. S. B. Primer, pipelines, parameters: issues in 16S rRNA gene sequencing. *mSphere*, v. 6, n. 1, e01202-20, 2021. DOI: 10.1128/mSphere.01202-20.
- ABREU, V. A. C.; PERDIGÃO, J.; ALMEIDA, S. Metagenomic approaches to analyze antimicrobial resistance: an overview. *Frontiers in Genetics*, v. 11, art. 575592, 2021. DOI: 10.3389/fgene.2020.575592.
- AGYARE, C.; BOAMAH, V. E.; ZUMBI, C. N.; OSEI, F. B. Antibiotic use in poultry production and its effects on bacterial resistance. In: ARORA, G.; KHAN, R.; YADAV, A. (ed.). *Antimicrobial Resistance: A Global Threat*. London: IntechOpen, 2018.
- ALCOCK, B. P.; HUYNH, W.; CHALIL, R.; SMITH, K. W.; RAPHENYA, A. R.; WLODARSKI, M. A.; EDALATMAND, A.; PETKAU, A.; SYED, S. A.; TSANG, K.; BAKER, S. J. C.; DAVE, M.; MCARTHUR, A. G. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. D1, p. D690-D699, 2023. DOI: 10.1093/nar/gkac920.
- ALVES, L. F.; WESTMANN, C. A.; LOVATE, G. L.; SIQUEIRA, G. M. V.; BORELLI, T. C.; GUAZZARONI, M. E. Metagenomic approaches for understanding new concepts in microbial science. *International Journal of Genomics*, v. 2018, art. 2312987, 2018. DOI: 10.1155/2018/2312987.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 16389:2015: *Avicultura: produção, abate, processamento e identificação do frango caipira, colonial ou capoeira*. Rio de Janeiro: ABNT, 2015.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório anual 2026. São Paulo: ABPA, 2026.
- BAILONE, R. L.; ROÇA, R. O.; FUKUSHIMA, H. C. S.; AGUIAR, L. K. Sustainable water management in slaughterhouses by cleaner production methods: a review. *Renewable Agriculture and Food Systems*, v. 36, n. 2, p. 215-224, 2021. DOI: 10.1017/S1742170520000083.
- BAKER, M.; ZHANG, X.; MACIEL-GUERRA, A.; DONG, Y.; WANG, W.; HU, Y.; RENNEY, D.; HU, Y.; LIU, L.; LI, H.; TONG, Z.; ZHANG, M.; GENG, Y.; ZHAO, L.; HAO, Z.; SENIN, N.; CHEN, J.; PENG, Z.; LI, F.; DOTTORINI, T. Machine learning and metagenomics reveal shared antimicrobial resistance profiles across multiple chicken farms and abattoirs in China. *Nature Food*, v. 4, n. 8, p. 707-720, 2023. DOI: 10.1038/s43016-023-00814-w.
- BEGMATOV, S.; BELETSKY, A. V.; DOROFEEV, A. G.; PIMENOV, N. V.; MARDANOV, A. V.; RAVIN, N. V. Metagenomic insights into the wastewater resistome before and after purification at large-scale wastewater treatment plants in Moscow city. *Scientific Reports*, v. 14, art. 6349, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-56870-0.
- BERG, G.; RYBAKOVA, D.; FISCHER, D.; CERNAVA, T.; VERGÈS, M. C.; CHARLES, T.; CHEN, X.; COCOLIN, L.; EVERSOLE, K.; CORRAL, G. H.; KAZOU, M.; KINKEL, L.; LANGE, L.; LIMA, N.; LOY, A.; MACKLIN, J. A.; MAGUIN, E.; MAUCHLINE, T.;

1 MCCLURE, R.; MITTER, B.; RYAN, M.; SARAND, I.; SMIDT, H.; SCHELKLE, B.;  
 2 ROUME, H.; KIRAN, G. S.; SELVIN, J.; SOUZA, R. S. C.; VAN OVERBEEK, L.; SINGH,  
 3 B. K.; WAGNER, M.; WALSH, A.; SESSITSCH, A.; SCHLOTER, M. Microbiome definition  
 4 re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, v. 8, art. 103, 2020. DOI:  
 5 10.1186/s40168-020-00875-0.  
 6 BLAIR, J. M. A.; WEBBER, M. A.; BAYLAY, A. J.; OGBOLU, D. O.; PIDDOCK, L. J. V.  
 7 Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, v. 13, n. 1, p.  
 8 42-51, 2015. DOI: 10.1038/nrmicro3380.  
 9 BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março  
 10 de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu  
 11 enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes.  
 12 Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 mar. 2005.  
 13 BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio  
 14 de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera  
 15 a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 maio  
 16 2011.  
 17 BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 503, de 14 de  
 18 dezembro de 2021. Define critérios e procedimentos para o reúso em sistemas de fertirrigação  
 19 de efluentes provenientes de indústrias de alimentos, bebidas, laticínios, frigoríficos e graxarias.  
 20 Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 236, seção 1, p. 203, 16 dez. 2021.  
 21 BRASIL. Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Regulamenta a Lei nº 10.831, de 23  
 22 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. Diário  
 23 Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 28 dez. 2007.  
 24 BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá  
 25 outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 24 dez. 2003.  
 26 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria MAPA nº 52, de 15 de  
 27 março de 2021. Estabelece o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção e  
 28 as listas de substâncias e práticas autorizadas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção.  
 29 Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 23 mar. 2021.  
 30 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa  
 31 Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Ofício-Circular  
 32 DIPOA/SDA/MAPA nº 73, de 4 de setembro de 2020. Orientações sobre a utilização das  
 33 denominações “caipira”, “colonial” e “capoeira” em produtos avícolas. Brasília, DF: MAPA,  
 34 2020.  
 35 BREITWIESER, F. P.; LU, J.; SALZBERG, S. L. A review of methods and databases for  
 36 metagenomic classification and assembly. *Briefings in Bioinformatics*, v. 20, n. 4, p. 1125-  
 37 1139, 2019. DOI: 10.1093/bib/bbx120.  
 38 BUSTILLO-LECOMPTE, C. F.; MEHRVAR, M. Slaughterhouse wastewater characteristics,  
 39 treatment, and management in the meat processing industry: a review on trends and advances.  
 40 *Journal of Environmental Management*, v. 161, p. 287-302, 2015. DOI:  
 41 10.1016/j.jenvman.2015.07.008.  
 42 CASTAÑEDA-BARBA, S.; TOP, E. M.; STALDER, T. Plasmids, a molecular cornerstone of  
 43 antimicrobial resistance in the One Health era. *Nature Reviews Microbiology*, v. 22, p. 18-32,  
 44 2024. DOI: 10.1038/s41579-023-00926-x.  
 45 CASTELLINI, C.; BASTIANONI, S.; GRANAI, C.; DAL BOSCO, A.; BRUNETTI, M.  
 46 Sustainability of poultry production using the emergy approach: comparison of conventional  
 47 and organic rearing systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 114, n. 2-4, p. 343-  
 48 350, 2006. DOI: 10.1016/j.agee.2005.11.014.  
 49 CASTELLINI, C.; BOGGIA, A.; CORTINA, C.; DAL BOSCO, A.; PAOLOTTI, L.;  
 50 NOVELLI, E.; MUGNAI, C. A multicriteria approach for measuring the sustainability of

different poultry production systems. *Journal of Cleaner Production*, v. 37, p. 192-201, 2012. DOI: 10.1016/j.jclepro.2012.07.006.

CERVANTES, H. M. Antibiotic-free poultry production: is it sustainable? *Journal of Applied Poultry Research*, v. 24, n. 1, p. 91-97, 2015. DOI: 10.3382/japr/pfv006.

CHECCUCCI, A.; TREVISI, P.; LUISE, D.; MODESTO, M.; BLASIOLI, S.; BRASCHI, I.; MATTARELLI, P. Exploring the animal waste resistome: the spread of antimicrobial resistance genes through the use of livestock manure. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, art. 1416, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01416.

CHEN, Y.; LIU, Y.; ZHAO, C.; MA, J.; GUO, J. Antibiotic resistance gene pollution in poultry farming environments and approaches for mitigation: a systematic review. *Poultry Science*, v. 104, n. 3, art. 104858, 2025. DOI: 10.1016/j.psj.2025.104858.

CLARKE, L. M.; O'BRIEN, J. W.; MURRAY, A. K.; GAZE, W. H.; THOMAS, K. V. A review of wastewater-based epidemiology for antimicrobial resistance surveillance. *Journal of Environmental Exposure Assessment*, v. 3, art. 7, 2024. DOI: 10.20517/jeea.2023.29.

DAL BOSCO, A.; MATTIOLI, S.; CARTONI MANCINELLI, A.; COTOZZOLO, E.; CASTELLINI, C. Extensive rearing systems in poultry production: the right chicken for the right farming system. A review of twenty years of scientific research in Perugia University, Italy. *Animals*, v. 11, n. 5, art. 1281, 2021. DOI: 10.3390/ani11051281.

DAL PAI, E. L. Consumo consciente de água em abatedouro de aves. *Revista (Re)Definições das Fronteiras*, v. 1, n. 2, p. 289-307, 2023.

DAVIS, B. C.; BROWN, C.; GUPTA, S.; CALARCO, J.; LIGUORI, K.; MILLIGAN, E.; HARWOOD, V. J.; PRUDEN, A.; KEENUM, I. Recommendations for the use of metagenomics for routine monitoring of antibiotic resistance in wastewater and impacted aquatic environments. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 53, n. 19, p. 1731-1756, 2023. DOI: 10.1080/10643389.2023.2181620.

DE CESARE, A.; OLIVERI, C.; LUCCHI, A.; SAVINI, F.; MANFREDI, G.; SALA, C. Pilot study on poultry meat from antibiotic free and conventional farms: can metagenomics detect any difference? *Foods*, v. 11, n. 3, art. 249, 2022. DOI: 10.3390/foods11030249.

DE FARIAS, B. O.; DOS SANTOS LOPES, E.; PEREIRA, B. C.; PIMENTA, R. L.; PARENTE, C. E. T.; SELDIN, L.; SAGGIORO, E. M. Poultry slaughterhouse wastewater as a driver of bacterial community shifts and the spread of antibiotic resistance genes in aquatic ecosystems. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 197, art. 1268, 2025a. DOI: 10.1007/s10661-025-14745-5.

DE FARIAS, B. O.; SAGGIORO, E. M.; MONTENEGRO, K. S.; MAGALDI, M.; SANTOS, H. S. O.; GONÇALVES-BRITO, A. S.; PIMENTA, R. L.; FERREIRA, R. G.; SPISSO, B. F.; PEREIRA, M. U.; BIANCO, K.; CLEMENTINO, M. M. Metagenomic insights into plasmid-mediated antimicrobial resistance in poultry slaughterhouse wastewater: antibiotics occurrence and genetic markers. *Environmental Science and Pollution Research International*, v. 31, n. 51, p. 60880-60894, 2024. DOI: 10.1007/s11356-024-35287-2.

DE FARIAS, B. O.; SAGGIORO, E. M.; MONTENEGRO, K. S.; MAGALDI, M.; SANTOS, H. S. O.; PIMENTA, R. L.; BIANCO, K.; CLEMENTINO, M. M. Degradation of plasmid-mediated resistance genes in poultry slaughterhouse wastewater employing a UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process: a metagenomic approach. *Chemosphere*, v. 372, art. 144109, 2025b. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2025.144109.

DELFORNO, T. P.; LACERDA JUNIOR, G. V.; NORONHA, M. F.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A.; OLIVEIRA, V. M. Microbial diversity of a full-scale UASB reactor applied to poultry slaughterhouse wastewater treatment: integration of 16S rRNA gene amplicon and shotgun metagenomic sequencing. *MicrobiologyOpen*, v. 6, n. 3, e00443, 2017. DOI: 10.1002/mbo3.443.

DJORDJEVIC, S. P.; JAROCKI, V. M.; SEEMANN, T.; CUMMINS, M. L.; WATT, A. E.;

DRIGO, B.; WYRSCH, E. R.; REID, C. J.; DONNER, E.; HOWDEN, B. P. Genomic surveillance for antimicrobial resistance: a One Health perspective. *Nature Reviews Genetics*, v. 25, p. 142-157, 2024. DOI: 10.1038/s41576-023-00649-y.

DOS SANTOS, D. F.; BARROS, M. V.; SALVADOR, R.; DE FRANCISCO, A. C.; PIEKARSKI, C. M. Environmental impacts of chicken meat production chain in Brazil: life cycle assessment. *Journal of Environmental Management*, v. 345, art. 118663, 2023. DOI: 10.1016/j.jenvman.2023.118663.

EDWIN, N. R.; DUFF, A.; DEVEAUTOUR, C.; BRENNAN, F.; ABRAM, F.; O'SULLIVAN, O. Consistent microbial insights across sequencing methods in soil studies: the role of reference taxonomies. *mSystems*, v. 10, n. 7, e01059-24, 2025. DOI: 10.1128/msystems.01059-24.

ESPINOSA, E.; BAUTISTA, R.; LARROSA, R.; PLATA, O. Advancements in long-read genome sequencing technologies and algorithms. *Genomics*, v. 116, n. 3, art. 110842, 2024. DOI: 10.1016/j.ygeno.2024.110842.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Implementing Decision (EU) 2023/2749 of 11 December 2023 establishing the best available techniques (BAT) conclusions for slaughterhouses and animal by-products and/or edible co-products industries, under Directive 2010/75/EU of the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Union*, 2023.

FANG, C.; LIU, K.-D.; TIAN, F.-J.; LI, J.-Y.; LI, S.-J.; ZHANG, R.-M.; SUN, J.; FANG, L.-X.; REN, H.; WANG, M.-G.; LIAO, X.-P. Metagenomic analysis unveiled the response of microbial community and antimicrobial resistome in natural water body to duck farm sewage. *Environmental Pollution*, v. 361, art. 124784, 2024. DOI: 10.1016/j.envpol.2024.124784.

FATIMA, F.; DU, H.; KOMMALAPATI, R. R. Treatment of poultry slaughterhouse wastewater with membrane technologies: a review. *Water*, v. 13, n. 14, art. 1905, 2021. DOI: 10.3390/w13141905.

FRANKLIN, A. M.; WELLER, D. L.; DURSO, L. M.; BAGLEY, M.; DAVIS, B. C.; FRYE, J. G.; GRIM, C. J.; IBEKWE, A. M.; JAHNE, M. A.; KEELY, S. P.; KRAFT, A. L.; MCCONN, B. R.; MITCHELL, R. M.; OTTESEN, A. R.; SHARMA, M.; STRAIN, E. A.; TADESSE, D. A.; TATE, H.; WELLS, J. E.; WILLIAMS, C. F.; COOK, K. L.; KABERA, C.; MCDERMOTT, P. F.; GARLAND, J. L. A One Health approach for monitoring antimicrobial resistance: developing a national freshwater pilot effort. *Frontiers in Water*, v. 6, art. 1359109, 2024. DOI: 10.3389/frwa.2024.1359109.

GADDE, U.; KIM, W. H.; OH, S. T.; LILLEHOJ, H. S. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal Health Research Reviews*, v. 18, n. 1, p. 26-45, 2017. DOI: 10.1017/S1466252316000207.

GAONKAR, P. P.; SANTANA-PEREIRA, A. L. R.; GOLDEN, R.; LAMBERT, A.; HIGGINS, C.; ADHIKARI, Y.; BAILEY, M.; MACKLIN, K.; HUBER, L. Microbiome and resistome dynamics in different stages of commercial broiler production with restricted antimicrobial use. *BMC Microbiology*, v. 26, art. 126, 2026. DOI: 10.1186/s12866-025-04664-3.

GARNER, E.; MAILE-MOSKOWITZ, A.; ANGELES, L. F.; FLACH, C.-F.; AGA, D. S.; NAMBI, I.; LARSSON, D. G. J.; BÜRGMANN, H.; ZHANG, T.; VIKESLAND, P. J.; PRUDEN, A. Metagenomic profiling of internationally sourced sewage influents and effluents yields insight into selecting targets for antibiotic resistance monitoring. *Environmental Science & Technology*, v. 58, n. 37, p. 16547-16559, 2024. DOI: 10.1021/acs.est.4c03726.

GOODWIN, S.; MCPHERSON, J. D.; MCCOMBIE, W. R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*, v. 17, n. 6, p. 333-351, 2016. DOI: 10.1038/nrg.2016.49.

GRASSLY, N. C.; SHAW, A. G.; OWUSU, M. Global wastewater surveillance for pathogens with pandemic potential: opportunities and challenges. *The Lancet Microbe*, v. 6, n. 1, art.

100939, 2025. DOI: 10.1016/j.lanmic.2024.07.002.

HEATHER, J. M.; CHAIN, B. The sequence of sequencers: the history of sequencing DNA. *Genomics*, v. 107, n. 1, p. 1-8, 2016. DOI: 10.1016/j.ygeno.2015.11.003.

HELJANKO, V.; KARAMA, M.; KYMÄLÄINEN, A.; KURITTU, P.; JOHANSSON, V.; TIWARI, A.; NYIRENDA, M.; MALAHLELA, M.; HEIKINHEIMO, A. Wastewater and environmental sampling holds potential for antimicrobial resistance surveillance in food-producing animals: a pilot study in South African abattoirs. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 11, art. 1444957, 2024. DOI: 10.3389/fvets.2024.1444957.

HILL, R.; STENTIFORD, G. D.; WALKER, D. I.; BAKER-AUSTIN, C.; WARD, G.; MASKREY, B. H.; VAN AERLE, R.; VERNER-JEFFREYS, D.; PEELER, E.; BASS, D. Realising a global One Health disease surveillance approach: insights from wastewater and beyond. *Nature Communications*, v. 15, art. 5324, 2024. DOI: 10.1038/s41467-024-49417-4.

HOLMES, A. H.; MOORE, L. S. P.; SUNDSFJORD, A.; STEINBAKK, M.; REGMI, S.; KARKEY, A.; GUERIN, P. J.; PIDDOCK, L. J. V. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, v. 387, n. 10014, p. 176-187, 2016. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)00473-0.

HOMEIER-BACHMANN, T.; HEIDEN, S. E.; BACHMANN, L.; SCHWARZ, S.; HESS, C.; HESS, M.; BENDER, J. K.; ZIEGLER, U.; GÖRLICH, D.; KLEES, S.; KREYENSCHMIDT, J.; SCHIERACK, P.; BIERBAUM, G.; SCHMITHAUSEN, R. M.; SAVIN, M. Antibiotic-resistant Enterobacteriaceae in wastewater of abattoirs. *Antibiotics*, v. 10, n. 6, art. 568, 2021. DOI: 10.3390/antibiotics10060568.

HU, T.; CHITNIS, N.; MONOS, D.; DINH, A. Next-generation sequencing technologies: an overview. *Human Immunology*, v. 82, n. 11, p. 801-811, 2021. DOI: 10.1016/j.humimm.2021.02.012.

IBRAHIM, S. L.; MUHAMMAD, B. F.; MUHAMMAD, M. I.; MUHAMMAD, A. A. An assessment of water footprint in small-scale poultry slaughter and meat processing plants in some Kano Metropolitan Local Governments Areas. *Journal of Arid Agriculture*, v. 26, n. 3, p. 1-7, 2025.

INTERNATIONAL FINANCE CORPORATION. Environmental, Health, and Safety Guidelines for Meat Processing. Washington, DC: World Bank Group, 2007.

KANYEREZI, S.; GUERFALI, F. Z.; ANZAKU, A.; BABALEYE, O.; CALVERT-JOSHUA, T.; NGUINKAL, J.; PAUL, O.; ATRI, C.; KHAN, W.; SALEH, I.; NISAR, M.; KASAMBULA, A.; MORAPEDI, K.; MBOOWA, G. Wastewater metagenomics in Africa: opportunities and challenges. *PLOS Global Public Health*, v. 4, n. 12, e0004044, 2024. DOI: 10.1371/journal.pgph.0004044.

KARLIS, P.; PRESICCE, F.; GINER SANTONJA, G.; BRINKMANN, T.; ROUDIER, S. Best Available Techniques (BAT) Reference Document for the Slaughterhouses, Animal By-products and/or Edible Co-products Industries. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2024.

KIEPPER, B. H.; MERKA, W. C.; FLETCHER, D. L. Proximate composition of poultry processing wastewater particulate matter from broiler slaughter plants. *Poultry Science*, v. 87, n. 8, p. 1633-1636, 2008. DOI: 10.3382/ps.2007-00331.

KIM, D.-W.; CHA, C.-J. Antibiotic resistome from the One-Health perspective: understanding and controlling antimicrobial resistance transmission. *Experimental & Molecular Medicine*, v. 53, p. 301-309, 2021. DOI: 10.1038/s12276-021-00569-z.

KLEIN, H. S.; LUNA, F. V. The emergence of Brazil as the leading world exporter of chicken meat. *Historia Agraria de América Latina*, v. 3, n. 1, p. 82-107, 2022. DOI: 10.53077/haal.v3i01.127.

KLEIST, J. F.; BACHMANN, L.; HUXDORFF, C.; EGER, E.; SCHAUFLE, K.; WEDEMEYER, J.; HOMEIER-BACHMANN, T. ESBL-producing *Escherichia coli* in

wastewater from German slaughterhouses. *One Health*, v. 20, art. 101189, 2025. DOI: 10.1016/j.onehlt.2025.101189.

LA ROSA, M. C.; MAUGERI, A.; FAVARA, G.; LA MASTRA, C.; MAGNANO SAN LIO, R.; BARCHITTA, M.; AGODI, A. The impact of wastewater on antimicrobial resistance: a scoping review of transmission pathways and contributing factors. *Antibiotics*, v. 14, n. 2, art. 131, 2025. DOI: 10.3390/antibiotics14020131.

LARSSON, D. G. J.; FLACH, C.-F. Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, v. 20, p. 257-269, 2022. DOI: 10.1038/s41579-021-00649-x.

LEGGIERI, P. A.; LIU, Y.; HAYES, M.; CONNORS, B.; SEPPÄLÄ, S.; O'MALLEY, M. A.; VENTURELLI, O. S. Integrating systems and synthetic biology to understand and engineer microbiomes. *Annual Review of Biomedical Engineering*, v. 23, p. 169-201, 2021. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-082120-015948.

LEVY, S. E.; MYERS, R. M. Advancements in next-generation sequencing. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, v. 17, p. 95-115, 2016. DOI: 10.1146/annurev-genom-083115-022413.

LI, S.; ZHAO, C.; REN, W.; ZHANG, Z.; WANG, W.; ZHANG, Q.; MA, M.; ZHAO, G.; CHEN, F.; LIU, H.; PENG, W.-Y.; WANG, Z.; JIANG, W.; WANG, L.; ZHANG, W.; ZHANG, Y.; MA, J.; YU, W.; WANG, Z.; GAO, Y.-Z.; CHEN, J.; ZHANG, X.; ZHOU, D.; LV, J.; WANG, S.; CASALS MERCADAL, E.; PENG, H.; ZHAO, W.; ZENG, M. The interplay of environmental and human microbiomes: a review of diversity, functions, and implications for One Health. *The Innovation Life*, v. 4, art. 100208, 2026. DOI: 10.59717/j.xinn-life.2026.100208.

LIGUORI, K.; KEENUM, I.; DAVIS, B. C.; CALARCO, J.; MILLIGAN, E.; HARWOOD, V. J.; PRUDEN, A. Antimicrobial resistance monitoring of water environments: a framework for standardized methods and quality control. *Environmental Science & Technology*, v. 56, n. 13, p. 9149-9160, 2022. DOI: 10.1021/acs.est.1c08918.

LIU, H. Y.; PRENTICE, E. L.; WEBBER, M. A. Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms. *npj Antimicrobials and Resistance*, v. 2, art. 27, 2024b. DOI: 10.1038/s44259-024-00046-3.

LIU, Y.; MA, Y. Clinical applications of metagenomics next-generation sequencing in infectious diseases. *Journal of Zhejiang University Science B*, v. 25, n. 6, p. 471-484, 2024a. DOI: 10.1631/jzus.B2300666.

MANCUSO, G.; MIDIRI, A.; GERACE, E.; BIONDO, C. Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens*, v. 10, n. 10, p. 1310, 2021. DOI: 10.3390/pathogens10101310.

MATSUMURA, Y.; YAMAMOTO, M.; GOMI, R.; TSUCHIDO, Y.; RAKOVIC, A.; NAGAO, M. Integrating whole-genome sequencing into antimicrobial resistance surveillance: methodologies, challenges, and perspectives. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 38, n. 4, e00140-22, 2025. DOI: 10.1128/cmr.00140-22.

MEIRAMKULOVA, K.; TEMIRBEKOVA, A.; SASPUGAYEVA, G.; KYDYRBKOVA, A.; DEVRISHOV, D.; TULEGENOVA, Z.; AUBAKIROVA, K.; KOVALCHUK, N.; MEIRBEKOV, A.; MKILIMA, T. Performance of a combined treatment approach on the elimination of microbes from poultry slaughterhouse wastewater. *Sustainability*, v. 13, n. 6, art. 3467, 2021. DOI: 10.3390/su13063467.

MIINO, M. C.; GALAFASSI, S.; ZULLO, R.; TORRETTA, V.; RADA, E. C. Microplastics removal in wastewater treatment plants: a review of the different approaches to limit their release in the environment. *Science of the Total Environment*, v. 930, art. 172675, 2024. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.172675.

MOHAMMADI, H.; SAGHAIAN, S.; BOCCIA, F. Antibiotic-free poultry meat consumption and its determinants. *Foods*, v. 12, n. 9, art. 1776, 2023. DOI: 10.3390/foods12091776.

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum*, v. 4, n. 2, 2016. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.

MUNK, P.; BRINCH, C.; MØLLER, F. D.; PETERSEN, T. N.; HENDRIKSEN, R. S.; SEYFARTH, A. M.; KJELDGAARD, J. S.; SVENDSEN, C. A.; VAN BUNNIK, B.; BERGLUND, F.; GLOBAL SEWAGE SURVEILLANCE CONSORTIUM; LARSSON, D. G. J.; KOOPMANS, M.; WOOLHOUSE, M.; AARESTRUP, F. M. Genomic analysis of sewage from 101 countries reveals global landscape of antimicrobial resistance. *Nature Communications*, v. 13, art. 7251, 2022. DOI: 10.1038/s41467-022-34312-7.

MUSA, M. A.; IDRUS, S. Physical and biological treatment technologies of slaughterhouse wastewater: a review. *Sustainability*, v. 13, n. 9, art. 4656, 2021. DOI: 10.3390/su13094656.

NAPIT, R.; GURUNG, A.; POUDEL, A.; CHAUDHARY, A.; MANANDHAR, P.; SHARMA, A. N.; RAUT, S.; PRADHAN, S. M.; JOSHI, J.; POYET, M.; GROUSSIN, M.; RAJBHANDARI, R. M.; KARMACHARYA, D. B. Metagenomic analysis of human, animal, and environmental samples identifies potential emerging pathogens, profiles antibiotic resistance genes, and reveals horizontal gene transfer dynamics. *Scientific Reports*, v. 15, art. 12156, 2025. DOI: 10.1038/s41598-025-90777-8.

NASKO, D. J.; KOBLARZ, K. S.; SALZBERG, S. L.; BREITWIESER, F. P. RefSeq database growth influences the accuracy of k-mer-based lowest common ancestor species identification. *Genome Biology*, v. 19, art. 165, 2018. DOI: 10.1186/s13059-018-1554-6.

NG, M.; DALHATOU, S.; WILSON, J.; KAMDEM, B. P.; TEMITOPE, M. B.; PAUMO, H. K.; DJELAL, H.; ASSADI, A. A.; NGUYEN-TRI, P.; KANE, A. Characterization of slaughterhouse wastewater and development of treatment techniques: a review. *Processes*, v. 10, n. 7, art. 1300, 2022. DOI: 10.3390/pr10071300.

NUNES, J. F.; PATRICIO, T. C. C.; FARIAS, B. O.; SOUZA, H. D. F.; PIMENTA, R. L.; CLEMENTINO, M. B. M.; SOUZA, M. M. S.; COELHO, I. S.; COELHO, S. M. O. Poultry slaughterhouse wastewater as a source of bacterial antimicrobial resistance. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 55, n. 4, p. 3363-3372, 2024. DOI: 10.1007/s42770-024-01466-z.

ONICIUC, E. A.; LIKOTRAFITI, E.; ALVAREZ-MOLINA, A.; PRIETO, M.; SANTOS, J. A.; ALVAREZ-ORDÓÑEZ, A. The present and future of whole genome sequencing and whole metagenome sequencing for surveillance of antimicrobial resistant microorganisms and antimicrobial resistance genes across the food chain. *Genes*, v. 9, n. 5, art. 268, 2018. DOI: 10.3390/genes9050268.

PAL, C.; BENGTSOON-PALME, J.; RENSING, C.; KRISTIANSSON, E.; LARSSON, D. G. J. Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into their co-selection potential. *BMC Genomics*, London, v. 16, artigo 964, 2015. DOI: 10.1186/s12864-015-2153-5.

PARTRIDGE, S. R.; KWONG, S. M.; FIRTH, N.; JENSEN, S. O. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 31, n. 4, e00088-17, 2018. DOI: 10.1128/CMR.00088-17.

PATRÍCIO, T. C. Pesquisa de *Escherichia coli* produtoras de beta-lactamases em águas circulantes de abatedouro aviário no estado do Rio de Janeiro, Brasil. 2023. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2023.

PEÑA, N.; LAFUENTE, I.; SEVILLANO, E.; FEITO, J.; CONTENTE, D.; MUÑOZ-ATIENZA, E.; CINTAS, L. M.; HERNÁNDEZ, P. E.; BORRERO, J. Screening and genomic profiling of antimicrobial bacteria sourced from poultry slaughterhouse effluents: bacteriocin production and safety evaluation. *Genes*, v. 15, n. 12, art. 1564, 2024. DOI: 10.3390/genes15121564.

PÉREZ-COBAS, A. E.; GOMEZ-VALERO, L.; BUCHRIESER, C. Metagenomic approaches in microbial ecology: an update on whole-genome and marker gene sequencing analyses.

Microbial Genomics, v. 6, n. 8, e000409, 2020. DOI: 10.1099/mgen.0.000409.

PERVEZ, M. N.; AHMED, S.; SHAH, S. A. A.; ZAHRA, A.; AFZAL, A.; MALIK, M. F. A concise review on next-generation sequencing platforms and bioinformatics tools. *Journal of Genomics*, v. 10, p. 16-24, 2022. DOI: 10.7150/jgen.68910.

PHILIPP, M.; MASMOUDI JABRI, K.; WELLMANN, J.; AKROUT, H.; BOUSSELMI, L.; GEISSEN, S.-U. Slaughterhouse wastewater treatment: a review on recycling and reuse possibilities. *Water*, v. 13, n. 22, art. 3175, 2021. DOI: 10.3390/w13223175.

POLLOCK, J.; GLENDINNING, L.; WISEDCHANWET, T.; WATSON, M. The madness of microbiome: attempting to find consensus “best practice” for 16S microbiome studies. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 84, n. 7, e02627-17, 2018. DOI: 10.1128/AEM.02627-17.

PUNCH, R.; AZANI, R.; ELLISON, C.; MAJURY, A.; HYNDS, P. D.; PAYNE, S. J.; BROWN, R. S. The surveillance of antimicrobial resistance in wastewater from a One Health perspective: a global scoping and temporal review (2014-2024). *One Health*, v. 21, art. 101139, 2025. DOI: 10.1016/j.onehlt.2025.101139.

QUINCE, C.; WALKER, A. W.; SIMPSON, J. T.; LOMAN, N. J.; SEGATA, N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology*, v. 35, n. 9, p. 833-844, 2017. DOI: 10.1038/nbt.3935.

RAUSCH, P.; RÜHLEMANN, M.; HERMES, B. M.; DOMS, S.; DAGHIO, M.; DUGGAN, S.; STÜBER, N.; LUCIO, M.; OBERMAYER, K.; FRICKE, W. F.; CLAVEL, T.; RABUS, R.; SCHRAMM, A.; BORK, P.; FROSTEGÅRD, Å.; STREIT, W. R.; SCHMITZ, R. A.; ROSENSTIEL, P.; FRANKE, A.; BAINES, J. F. Comparative analysis of amplicon and metagenomic sequencing methods reveals key features in the evolution of animal metaorganisms. *Microbiome*, v. 7, art. 133, 2019. DOI: 10.1186/s40168-019-0743-1.

RELUCIO-SAN DIEGO, M. A. C. V.; GLORIA, P. C. T.; OBUSAN, M. C. M. 16S metabarcoding of the bacterial community of a poultry wastewater treatment plant in the Philippines. *Frontiers in Environmental Science*, v. 12, art. 1390323, 2024. DOI: 10.3389/fenvs.2024.1390323.

ROCCHI, L.; PAOLOTTI, L.; ROSATI, A.; BOGGIA, A.; CASTELLINI, C. Assessing the sustainability of different poultry production systems: a multicriteria approach. *Journal of Cleaner Production*, v. 211, p. 103-114, 2019. DOI: 10.1016/j.jclepro.2018.11.013.

ROUT, A. K.; ROUT, S. S.; PANDA, A.; TRIPATHY, P. S.; KUMAR, N.; PARIDA, S. N.; DEY, S.; DASH, S. S.; BEHERA, B. K.; PANDEY, P. K. Potential applications and future prospects of metagenomics in aquatic ecosystems. *Gene*, v. 967, art. 149720, 2025. DOI: 10.1016/j.gene.2025.149720.

RUI, Y.; QIU, G. Analysis of antibiotic resistance genes in water reservoirs and related wastewater from animal farms in Central China. *Microorganisms*, v. 12, n. 2, art. 396, 2024. DOI: 10.3390/microorganisms12020396.

SATAM, H.; JOSHI, K.; MANGROLIA, U.; WAGHMARE, S.; ZAIDI, G.; RAWOOL, S.; THAKARE, R. P.; BANDGAR, T.; MISHRA, A. K.; DAS, G.; MALONI, D.; RAO, S. Next-generation sequencing technology: current trends and advancements. *Biology*, v. 12, n. 7, art. 997, 2023. DOI: 10.3390/biology12070997.

SAVIN, M.; ALEXANDER, J.; BIERBAUM, G.; HAMMERL, J. A.; HEMBACH, N.; SCHWARTZ, T.; SCHMITHAUSEN, R. M.; SIB, E.; KREYENSCHMIDT, J. Antibiotic-resistant bacteria, antibiotic resistance genes, and antibiotic residues in wastewater from a poultry slaughterhouse after conventional and advanced treatments. *Scientific Reports*, v. 11, art. 16622, 2021a. DOI: 10.1038/s41598-021-96169-y.

SAVIN, M.; BIERBAUM, G.; BLAU, K.; PARČINA, M.; SIB, E.; SMALLA, K.; SCHMITHAUSEN, R. M.; HEINEMANN, C.; HAMMERL, J. A.; KREYENSCHMIDT, J. Colistin-resistant Enterobacteriaceae isolated from process waters and wastewater from German poultry and pig slaughterhouses. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, art. 575391, 2020b.

DOI: 10.3389/fmicb.2020.575391.

SAVIN, M.; BIERBAUM, G.; HAMMERL, J. A.; HEINEMANN, C.; PARČINA, M.; SIB, E.; VOIGT, A.; KREYENSCHMIDT, J. ESKAPE bacteria and extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from wastewater and process water from German poultry slaughterhouses. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 86, n. 8, e02748-19, 2020a. DOI: 10.1128/AEM.02748-19.

SAVIN, M.; BIERBAUM, G.; KREYENSCHMIDT, J.; SCHMITHAUSEN, R. M.; SIB, E.; SCHMOGER, S.; KÄSBOHRER, A.; HAMMERL, J. A. Clinically relevant *Escherichia coli* isolates from process waters and wastewater of poultry and pig slaughterhouses in Germany. *Microorganisms*, v. 9, n. 4, art. 698, 2021b. DOI: 10.3390/microorganisms9040698.

SEMEDO, M.; SONG, B. Sediment metagenomics reveals the impacts of poultry industry wastewater on antibiotic resistance and nitrogen cycling genes in tidal creek ecosystems. *Science of the Total Environment*, v. 857, pt. 2, art. 159496, 2023. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.159496.

SEQUINO, G.; COBO-DÍAZ, J. F.; VALENTINO, V.; TASSOU, C.; VOLPE, S.; TORRIERI, E.; NYCHAS, G. J.; ÁLVAREZ-ORDÓÑEZ, A.; ERCOLINI, D.; DE FILIPPIS, F. Environmental microbiome mapping in poultry processing chain and assessment of microbial dynamics in response to different storage conditions. *Food Microbiology*, v. 128, art. 104734, 2025. DOI: 10.1016/j.fm.2025.104734.

SMITH, A. M.; RAMUDZULU, M.; MUNK, P.; AVOT, B. J. P.; ESTERHUYSE, K. C. M.; VAN BLERK, N.; KWENDA, S.; SEKWADI, P. Metagenomics analysis of sewage for surveillance of antimicrobial resistance in South Africa. *PLOS ONE*, v. 19, n. 8, e0309409, 2024. DOI: 10.1371/journal.pone.0309409.

TAGINI, F.; GREUB, G. Bacterial genome sequencing in clinical microbiology: a pathogen-oriented review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, v. 36, p. 2007-2020, 2017. DOI: 10.1007/s10096-017-3024-6.

TELUSSA, R.; RAHAYU, P.; YUNINDIKA, T.; KAPSAK, C. J.; RAHAYU, K. P.; SUSANTI, O.; SUANDY, I.; TRIWJAYANTI, N.; NIASONO, A. B.; MA'ARIF, S.; WIBAWA, H.; LESTARI, L.; UTOMO, G. B.; ZENAL, F. C.; SCHOONMAN, L.; VOTH-GAEDDERT, L. E. Integrating Nanopore MinION sequencing into national animal health AMR surveillance programs: an Indonesian pilot study of chicken slaughterhouse effluent and rivers. *Antibiotics*, v. 14, n. 7, art. 624, 2025. DOI: 10.3390/antibiotics14070624.

UGBO, E. N.; JACOB, J. I.; EFFENDI, M. H.; WITANINGRUM, A. M.; AGUMAH, B. N.; UGBO, A. I.; MOSES, B. I. Poultry slaughterhouse wastewater as reservoirs for spreading extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Abakaliki, Nigeria. *Biodiversitas*, v. 24, p. 4960-4966, 2023.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Foreign Agricultural Service. Poultry and Products Semi-annual: Brazil. Report BR2026-0012. Brasília: USDA-FAS, 10 mar. 2026.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Meat and Poultry Products Effluent Guidelines and Standards: 40 CFR Part 432. Washington, DC: USEPA, 2004.

VIEIRA, T. R.; OLIVEIRA, E. F. C.; CIBULSKI, S. P.; SILVA, N. M. V.; BORBA, M. R.; OLIVEIRA, C. J. B.; CARDOSO, M. Comparative resistome, mobilome, and microbial composition of retail chicken originated from conventional, organic, and antibiotic-free production systems. *Poultry Science*, v. 102, n. 10, art. 103002, 2023. DOI: 10.1016/j.psj.2023.103002.

WALES, A. D.; DAVIES, R. H. Co-selection of resistance to antibiotics, biocides and heavy metals, and its relevance to foodborne pathogens. *Antibiotics, Basel*, v. 4, n. 4, p. 567-604, 2015. DOI: 10.3390/antibiotics4040567.

WANG, F.; XIANG, L.; LEUNG, K. S.-Y.; ELSNER, M.; ZHANG, Y.; GUO, Y.; PAN, B.;

SUN, H.; AN, T.; YING, G.; BROOKS, B. W.; HOU, D.; HELBLING, D. E.; SUN, J.; QIU, H.; VOGEL, T. M.; ZHANG, W.; GAO, Y.; SIMPSON, M. J.; LUO, Y.; CHANG, S. X.; SU, G.; WONG, B. M.; FU, T. M.; ZHU, D.; JOBST, K. J.; GE, C.; COULON, F.; HARINDINTWALI, J. D.; ZENG, X.; WANG, H.; FU, Y.; WEI, Z.; LOHMANN, R.; CHEN, C.; SONG, Y.; SANCHEZ-CID, C.; WANG, Y.; EL-NAGGAR, A.; YAO, Y.; HUANG, Y.; LAW, J. C.-F.; GU, C.; SHEN, H.; GAO, Y.; QIN, C.; LI, H.; ZHANG, T.; CORCOLL, N.; LIU, M.; ALESSI, D. S.; LI, H.; BRANDT, K. K.; PICÓ, Y.; GU, C.; GUO, J.; SU, J.; CORVINI, P.; YE, M.; ROCHA-SANTOS, T.; HE, H.; YANG, Y.; TONG, M.; ZHANG, W.; SUANON, F.; BRAHUSHI, F.; WANG, Z.; HASHSHAM, S. A.; VIRTÀ, M.; YUAN, Q.; JIANG, G.; TREMBLAY, L. A.; BU, Q.; WU, J.; PEIJENBURG, W.; TOPP, E.; CAO, X.; JIANG, X.; ZHENG, M.; ZHANG, T.; LUO, Y.; ZHU, L.; LI, X.; BARCELÓ, D.; CHEN, J.; XING, B.; AMELUNG, W.; CAI, Z.; NAIDU, R.; SHEN, Q.; PAWLISZYN, J.; ZHU, Y.-G.; SCHAEFFER, A.; RILLIG, M. C.; WU, F.; YU, G.; TIEDJE, J. M. Emerging contaminants: a One Health perspective. *The Innovation*, v. 5, n. 4, art. 100612, 2024. DOI: 10.1016/j.xinn.2024.100612.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Volume 2: Wastewater use in agriculture. Geneva: World Health Organization, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Wastewater and environmental surveillance for one or more pathogens: guidance on prioritization, implementation and integration. Pilot version. Geneva: World Health Organization, 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Wastewater and Environmental Surveillance: summary for antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization, 2025. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/wastewater-and-environmental-surveillance--summary-for-antimicrobial-resistance>.

YANG, C.; CHOWDHURY, D.; ZHANG, Z.; CHEUNG, W. K.; LU, A.; BIAN, Z.; ZHANG, L. A review of computational tools for generating metagenome-assembled genomes from metagenomic sequencing data. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, v. 19, p. 6301-6314, 2021. DOI: 10.1016/j.csbj.2021.11.028.

YANG, Y.; CAI, S.; MO, C.; DONG, J.; CHEN, S.; WEN, Z. Profiles of antibiotic resistome risk in diverse water environments. *Communications Earth & Environment*, v. 6, art. 158, 2025. DOI: 10.1038/s43247-025-02139-x.

ZAHARIA, A.; NEDEFF, V.; FRUNZĂ, N.; NEDEFF, F.; BÂRSAN, N.; CHITIMUȘ, D. Some practical approaches of the poultry slaughter wastewater treatment by applying physico-chemical treatment. *BIO Web of Conferences*, v. 122, art. 01022, 2024. DOI: 10.1051/bioconf/202412201022.

ZANOL, M. B.; LIMA, J. P. P.; ASSEMAN, P.; AGUIAR, A. Assessment of characteristics and treatment processes of wastewater from slaughterhouses in the state of Minas Gerais, Brazil. *Journal of Environmental Management*, v. 358, art. 120862, 2024. DOI: 10.1016/j.jenvman.2024.120862.

ZHANG, L.; CHEN, F.; ZENG, Z.; XU, M.; SUN, F.; YANG, L.; BI, X.; LIN, Y.; GAO, Y.; HAO, H.; YI, W.; LI, M.; XIE, Y. Advances in metagenomics and its application in environmental microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, art. 766364, 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.766364.

ZHANG, R.-D.; GAO, F.-Z.; SHI, Y.-J.; ZHAO, J.-L.; LIU, Y.-S.; HE, L.-Y.; YING, G.-G. Metagenomic investigation of antibiotic resistance genes and resistant bacteria contamination in pharmaceutical plant sites in China. *Environmental Pollution*, v. 357, art. 124482, 2024. DOI: 10.1016/j.envpol.2024.124482.

## **4. OBJETIVOS**

Avaliar o microbioma, o resistoma e determinantes associados à disseminação da resistência antimicrobiana em efluentes finais tratados de abatedouros de frango de corte provenientes dos sistemas convencional e livre de antibióticos, considerando seu potencial como matriz de vigilância ambiental na perspectiva de Saúde Única.

### **4.1 Objetivos específicos**

- Caracterizar e comparar o microbioma e o resistoma dos efluentes tratados dos sistemas convencional e livre de antibióticos, considerando diversidade, composição taxonômica, abundância e distribuição de táxons e genes de resistência antimicrobiana compartilhados ou específicos de cada sistema.
- Investigar isolados bacterianos recuperados dos efluentes quanto ao perfil fenotípico de resistência, genes de resistência, virulência, plasmídeos e elementos associados à mobilidade genética.
- Discutir o papel dos efluentes de abatedouros avícolas como matrizes estratégicas para vigilância da resistência antimicrobiana na interface entre produção animal, ambiente e saúde pública.