

GABRIEL HENRIQUE GOMES MARIANO

**PESQUISA DE *INTEGRONS* CLASSE 1 EM ISOLADOS
BACTERIANOS PROVENIENTES DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE
FRANGO CONVENCIONAL E *ANTIBIOTIC FREE***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu,
SP, para obtenção do grau de médico veterinário

Preceptor: Prof Dr Fábio Sossai Possebon

Botucatu

2024

GABRIEL HENRIQUE GOMES MARIANO

**PESQUISA DE *INTEGRONS* CLASSE 1 EM ISOLADOS
BACTERIANOS PROVENIENTES DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE
FRANGO CONVENCIONAL E *ANTIBIOTIC FREE***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu,
SP, para obtenção do grau de médico veterinário

Área de Concentração: Inspeção de Produtos de Origem Animal

Preceptor: Prof. Dr. Fábio Sossai Possebon

Coordenador de Estágios: Prof. Dr. Adriano Sakai Okamoto

Botucatu

2024

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

Mariano, Gabriel Henrique Gomes.

Pesquisa de integrons classe 1 em isolados bacterianos provenientes de sistemas de produção de frango convencional e antibiotic free / Gabriel Henrique Gomes Mariano. - Botucatu, 2024

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Fábio Sossai Possebon

Capes: 20804008

1. Avicultura. 2. Genes. 3. Bactérias gram-negativas.
4. Resistência microbiana a medicamentos. 5. Saúde única.

Palavras-chave: Avicultura; Genes de resistência;
Gram-negativas; Resistência antimicrobiana; Saúde única.

GABRIEL HENRIQUE GOMES MARIANO

**PESQUISA DE INTEGRONS CLASSE 1 EM ISOLADOS
BACTERIANOS PROVENIENTES DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE
FRANGO CONVENCIONAL E ANTIBIOTIC FREE**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, para obtenção do título de Grau acadêmico Bacharel(a) em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Inspeção de Produtos de Origem Animal.

Data da defesa: 11 de novembro de 2024

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Fábio Sossai Possebon
UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu

Prof. Dr. Marcio Garcia Ribeiro
UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu

Prof. Dr. Felipe Fornazari
UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu

MARIANO, GABRIEL HENRIQUE GOMES. Pesquisa de *integrons* classe 1 em isolados bacterianos provenientes de sistemas de produção de frango convencional e *antibiotic free*. Botucatu, 2024. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Biologia Molecular) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade "Júlio de Mesquita Filho"

RESUMO

A indústria avícola brasileira é líder global nas exportações e se destaca como o terceiro maior produtor de carne de frango no mundo. Nesse cenário, os antimicrobianos desempenham papel crucial na prevenção e controle de doenças que afetam a criação de aves e impactam a economia. No entanto, a emergência e disseminação de microrganismos resistentes aos antimicrobianos, por processo natural e predominantemente genético, tem sido intensificado devido ao uso extensivo e indiscriminado destes fármacos. Os integrons, elementos genéticos móveis, assumem papel fundamental como marcadores-chave para monitorar e compreender a disseminação da resistência antimicrobiana. Neste contexto foi investigado a presença de Integrons em amostras de sistemas de produção avícolas. A taxa geral de positividade foi de 55,19% ($85/154 = 55,19\%$). Todas as amostras positivas foram da cadeia avícola convencional, sendo 61,15% ($85/139 = 61,15\%$), enquanto as amostras da cadeia livre de antibióticos apresentaram 0% ($0/15$) de positividade (teste de Fisher $p < 0,0001$). Esses resultados preliminares demonstram que a presença do gene Integron 1 em uma parcela dos isolados, tanto fermentadores de lactose quanto não fermentadores, sugere que a resistência antimicrobiana pode estar disseminada entre diferentes tipos de bactérias.

Palavras chaves: Avicultura, Resistência antimicrobiana, Genes de resistência, Bactérias Gram-negativas, Saúde Única

MARIANO, GABRIEL HENRIQUE GOMES. Research on Class 1 Integrons in Bacterial Isolates from Conventional and Antibiotic-Free Chicken Production Systems. Botucatu, 2024. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Biologia Molecular) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade "Júlio de Mesquita Filho"

ABSTRACT

The Brazilian poultry industry is a global leader in exports and stands out as the third-largest producer of chicken meat worldwide. In this context, antimicrobials play a crucial role in preventing and controlling diseases that affect poultry farming and have significant economic impacts. However, the emergence and spread of antimicrobial-resistant microorganisms, driven by natural and predominantly genetic processes, have been exacerbated by the extensive and indiscriminate use of these drugs. Integrons, mobile genetic elements, play a fundamental role as key markers for monitoring and understanding the dissemination of antimicrobial resistance. In this study, the presence of integrons in poultry production systems was investigated. The overall positivity rate was 55.19% (85/154). All positive samples originated from the conventional poultry chain, with a positivity rate of 61.15% (85/139), while samples from the antibiotic-free chain showed 0% positivity (0/15) (Fisher's test, $p < 0.0001$). These preliminary results indicate that the presence of the Integron 1 gene in a subset of isolates, including both lactose-fermenting and non-fermenting bacteria, suggests that antimicrobial resistance may be widespread among different bacterial types.

Keywords: Poultry farming, Antimicrobial resistance, Resistance genes, Gram-negative bacteria, One Health

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 Resistência aos Antibióticos.....	10
2.2 Integrons.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Coleta de Amostras.....	14
3.2 Isolamento das amostras.....	15
3.3 Extração do DNA.....	16
3.4 Identificação dos genes Intl mediado pelo PCR.....	16
3.5 Análises dos dados.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

1. INTRODUÇÃO

A indústria avícola brasileira ocupa uma posição de destaque no cenário global, com o Brasil se destacando como o principal exportador e o terceiro maior produtor de carne de frango em nível mundial. De acordo com dados da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2023) em 2023, espera-se que a produção de carne de frango atinja cerca de 14,95 milhões de toneladas ao longo dos próximos 12 meses, representando crescimento de cerca de 3% em comparação com o mesmo período do ano anterior, quando foi produzido 14,52 milhões. A oferta de produtos no mercado interno deve chegar a 9,85 milhões de toneladas, o que reflete incremento de 1,5% em relação aos 9,70 milhões de toneladas registrados em 2022. Tal fato implica que o consumo médio de carne de frango por pessoa em 2023 deverá atingir cerca de 46 quilos, marcando um acréscimo de 1,5% em relação aos 45,2 quilos por pessoa registrada no ano anterior. Esse status implica na necessidade de atender às demandas do mercado consumidor, especialmente no que diz respeito à saúde das aves e à excelência na qualidade dos alimentos produzidos (ABPA, 2023; KOTTWITZ et al., 2012).

À medida que a indústria avícola cresceu e se modernizou, notou-se aumento no tamanho dos sistemas de produção e maior concentração de animais nas instalações internas, criando, dessa forma, ambiente favorável para a multiplicação, disseminação e persistência de patógenos nas criações. Os antimicrobianos, entram nesse cenário assim, como instrumento imprescindível para o sucesso tanto na prevenção quanto no controle de enfermidades que afetam a criação de aves. Porém, o uso excessivo de antimicrobianos, para fins terapêuticos ou melhoria de desempenho, tem contribuído para o surgimento de isolados bacterianos resistentes a múltiplos agentes microbianos, que se respaldam em nível mundial, como problemática de ordem pública, justamente por causarem infecções, não passíveis de tratamentos com os

antimicrobianos disponíveis para uso no mercado nos dias atuais (MAGNUSSON. U, 2020; GARCIA-MIGURA et al, 2014; GUNNERS.S, 2004).

A resistência aos antibióticos se manifesta de diversas formas, dependendo do mecanismo de ação do fármaco em questão. Ainda que patógenos possam desenvolver resistência adicional por meio de mutações em seu genoma, muitas das características que conferem resistência, são obtidas pelas bactérias através da transferência horizontal de genes, frequentemente facilitada por elementos genéticos móveis (PARTRIDGE SR et al., 2018).

Um método de grande importância na obtenção e disseminação de genes de resistência a antibióticos é por meio dos integrons (GHALY, GILLINGS, 2018), que se caracterizam como elementos genéticos móveis presentes nos genomas bacterianos, que conferem a habilidade de adquirir, remover, organizar e expressar cassetes de genes.

Os integrons de classe 1, notórios por abrigarem genes de resistência a antibióticos, desempenham papel crucial como marcadores para rastrear e compreender a disseminação da resistência antimicrobiana em ambientes relacionados à produção de alimentos. Assim, entender a ocorrência destes elementos móveis, pode auxiliar na formulação de políticas de controle e regulamentação na indústria alimentícia, bem como reforçar a importância de assegurar que os produtos avícolas atendam aos mais elevados padrões de qualidade e de que a saúde pública esteja devidamente protegida contra potenciais riscos. Ademais, é necessário mapear qual é o impacto do uso de antimicrobianos na cadeia produtiva na ocorrência destes elementos de mobilidade genética.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resistência aos Antibióticos

A emergência e a disseminação de microrganismos resistentes a antimicrobianos é um processo natural, sobretudo genético, que foi intensificado pelo uso intensivo de antimicrobianos (WHO, 2021). Na avicultura tal problema se enfatiza para os consumidores, uma vez que existe a possibilidade de transferência horizontal entre microrganismos comensais e patogênicos (BLANCO et al., 1997, COHEN, 2000).

Vários microrganismos patogênicos, como *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter sp.* ganham notoriedade como ameaças globais à saúde humana e animal, pela alta resistência frente a múltiplas drogas. (WHO, 2014; RICE, L. B, 2010).

As bactérias gram-negativas ampliam o caráter crítico dessa questão, uma vez que são tipicamente mais resistentes comparativamente às gram-positivas, por apresentarem barreira de permeabilidade de membrana externa, que restringe os agentes antimicrobianos ao encontro de seus respectivos alvos de ligação nas bactérias (VAARA, M, 1992).

A membrana externa das gram-negativas, não permite a passagem de macromoléculas, e acaba limitando a difusão de substâncias hidrofóbicas por intermédio do revestimento constituído essencialmente de lipossacarídeos. A camada externa carece de glicerofosfolípidios e, respectivamente, de canais para difusão hidrofóbica. Adicionalmente, embora compostos hidrofílicos de pequeno porte consigam difundir-se através dos canais porínicos pela membrana externa, tem-se restrição imposta pelo estreitamento desses canais. Tal fato resulta em desafio significativo para o ingresso de substâncias que acabariam prejudicando essas bactérias. Esse é o caso de antibióticos, que são

predominantemente hidrofóbicos ou apresentam compostos hidrofílicos de grande porte, que em suma, são características que vão limitar seu ingresso na membrana externa (NIKAIDO, H., 1996; NIKAIDO, H., 1989).

A resistência aos antibióticos se manifesta de diversas formas, dependendo do mecanismo de ação do fármaco em questão. Entre os exemplos mais comuns estão a modificação dos alvos moleculares, a produção de enzimas capazes de degradar os compostos antimicrobianos e o uso de bombas que removem ativamente o fármaco do interior celular. Apesar da diversidade desses mecanismos, muitas das características que conferem resistência, são obtidas pelas bactérias através da transferência horizontal de genes, frequentemente facilitada por elementos genéticos móveis. (PARTRIDGE SR, KWONG SM, FIRTH N, JENSEN SO. 2018).

Elementos genéticos móveis são reconhecidos pela habilidade de mover-se dentro ou mesmo entre genomas, desempenhando um papel significativo na criação de variação fenotípica na resistência aos antimicrobianos. Os elementos mais relevantes incluem principalmente plasmídeos, sequências de inserção, transposons, elementos integrativos e conjugativos e ilhas genômicas. (GHALY, GILLINGS, 2018). Os grupos das oxazolidinonas, lipopeptídeos, macrolídeos, fluoroquinolonas, tetraciclina, β -lactâmicos, combinações de β -lactâmicos com inibidores de β -lactamases e até mesmo contra antibióticos (considerados a última linha de defesa, como carbapenêmicos e glicopeptídeo), são afetados por tais mecanismos de resistência (BIN ZAMAN S, 2017; PATERSON DL, BONOMO RA, 2005).

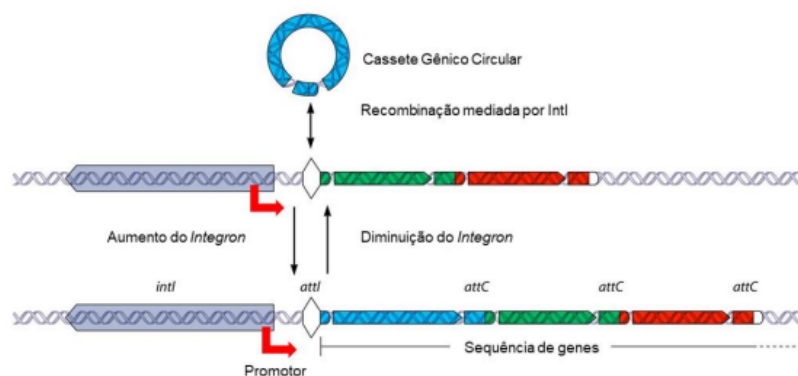
Outro método de grande importância na obtenção e disseminação de genes de resistência a antibióticos é por meio dos integrons (GHALY, GILLINGS, 2018).

2.2 Integrans

Integrans se caracterizam como elementos genéticos móveis que ocorrem em genomas bacterianos, e conferem a habilidade de adquirir, remover, organizar e expressar cassetes de genes (M.R. GILLINGS, 2014). Estruturalmente os integrans se constituem por três unidades: (i) um gene que codifica a integrase (intI), (ii) um sítio de recombinação (attI) para inclusão dos cassetes e (iii) um promotor do integron (Pc). Essas unidades possibilitam ainda a obtenção e a expressão de genes exógenos, que são passíveis de incorporação como parte de cassetes de genes através da recombinação no sítio de recombinação attI, utilizando-se assim a atividade da integrase codificada por intI (JOVÉ T, DA RE S, DENIS F, MAZEL D, PLOY MC. 2010).

A estrutura do integron e o processo de incorporação de novos genes estão ilustrados na **Figura 1**.

Figura 1 - Organização geral do integron e mecanismo de aquisição de cassetes gênicos.



Legenda: IntI - Região codificadora da integrase; setas vermelhas representam os promotores; attI - sítio de recombinação do integron; attC - área de recombinação dos cassetes gênicos.

Adaptado de Michael R. Gillings Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2014; doi:10.1128/MMBR.00056-1313

Integrans são capazes de adquirir novos genes incorporando elementos de DNA circular, identificados como cassetes gênicos. Estes se estruturam de um gene de fase de leitura aberta (ORF) somada a um sítio de recombinação attC. O processo de integração do cassete gênico se estabelece mediante ação enzimática da integrase, através da recombinação entre a região attC e attI do integron. Essa capacidade dos integrans em conseguir cassetes gênicos possibilita uma forma rápida de gerar diversidade adaptativa. Dessa maneira, bactérias se adaptam de uma maneira altamente efetiva a habitats e nichos específicos, pela codificação e metabolização, por exemplo de substâncias primordiais para a sobrevivência e proliferação em ambientes desafiadores. Consequentemente, não é surpresa que os integrans desempenhem papel importante na adaptação das bactérias à antibioticoterapia moderna (GILLINGS, 2014; GILLINGS et al., 2017).

A catalogação de integrans se fundamenta na estrutura do gene que codifica a enzima integrase. Centenas de classes foram catalogadas e descritas, e atualmente, temos três classes principais de integrans (referidos como classes 1, 2 e 3) que ganham notoriedade, pelo vínculo íntimo com cassetes de genes de resistência a antibióticos, e têm sido historicamente relacionadas à propagação desses genes (FONSECA; VICENTE, 2022).

Integrans de classe 1, a primeira classe a ser descoberta, são notáveis por realizar transferência lateral de DNA para ampla variedade de microrganismos comensais e bactérias patogênicas, bem como a capacidade de armazenar genes de resistência a antibióticos em resposta à exposição a compostos antimicrobianos (GAZE et al., 2005; GILLINGS et al., 2009a). Integrans de classe 1 são vinculados aos transposons do tipo Tn402 e ligado à família de transposons Tn3 (Tn21 ou Tn1696). São capazes de transportar e permitir transferência de material genético, tanto entre diferentes espécies quanto dentro da mesma espécie, através de reações de recombinação específicas que são mediadas pela integrase

Tn21 ou pela integrase do integron, conhecida como IntI1. (ROWE-MAGNUS DA, MAZEL D, 2001; RECCHIA GD, HALL RM, 1997).

Os integrons de classe 1, adquirem relevância clínica ainda maior, dado que estão presentes em proporção significativa, abrangendo de 22% a 59% dos isolados clínicos de bactérias gram-negativas (LABBATE M, CASE RJ, STOKES HW. 2009). Esses números se tornam ainda mais alarmantes, considerando que muitas bactérias gram-negativas desenvolveram resistência aos antibióticos e a disponibilidade de novos agentes antimicrobianos direcionados para combater essas bactérias permanece escassa (LEE, J. et al, 2007).

O objetivo deste trabalho foi determinar a ocorrência de Integrons Classe 1 em isolados bacterianos obtidos ao longo da cadeia produtiva de aves, e comparar essa ocorrência em sistema de produção convencional e livres de antibióticos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de Amostras

Foram coletadas amostras em abatedouros sob inspeção federal, dos quais um produtor de aves no sistema convencional de integração e outro com certificação para produção no sistema *antibiotic free*, contemplando diferentes etapas do sistema de produção, que compreendem o alojamento das aves, ambiente de abate e produtos. Foram utilizados suabes cloacais, suabes de arrasto internos e externos do aviário, suabes de superfícies de comedouros e bebedouros, enxagues de carcaças ao longo do processamento industrial (após a escaldagem e após o *chiller*) e coletas de produtos acabados. Tais amostras foram obtidas no contexto do projeto “Caracterização epidemiológica da produção de frangos de corte criados em sistemas convencionais e antibiotic-free na perspectiva da resistência aos

antibióticos utilizando uma abordagem em Saúde Única” aprovado pela FAPESP (processo 2022/03062-6) com anuência do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ nº 0290/2023.

Os locais amostrados bem como o número de amostras podem ser observados na **Tabela 1**. As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo e encaminhadas ao Laboratório do SOAP - Serviço de Orientação à Alimentação Pública, do Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP) no Campus de Botucatu.

Tabela 1. Locais amostrados e número de amostras

Local de Coleta	Sistema <i>Antibiotic free</i>	Sistema Convencional	Número de amostras
Antes do Alojamento das Aves	27	27	54
Metade do Alojamento das Aves	99	43	142
Abatedouro	105	69	174
Total	231	139	370

3.2 Isolamento das amostras

As amostras foram transferidas para caldo APT e incubadas a 36 °C por 18 a 20 horas. Em seguida, o material foi inoculado em Ágar MacConkey. Foram coletadas colônias fermentadoras de lactose (Lac +) e colônias não fermentadoras de lactose (Lac -). Essas colônias foram transferidas para o TSB (Tryptic Soy Broth) com glicerol para armazenamento a -20°C.

3.3 Extração do DNA

A extração dos isolados obtidos foi realizada por método de fervura com modificações (DIAS et al, 2016; PUI et al, 2011).

3.4 Identificação dos genes *IntI* mediado pelo PCR

As reações foram padronizadas para um volume final de 25 µL, contendo 5 µL de DNA, 12,5 µL da enzima GoTaq® Dna Polymerase, 5 µL de água nuclease-free e 1,25 µL de primers forward (GTCAAGGATSTGGATTTCTGA) e reverse (GTCAAAGATWTCGATTTTGA) na concentração de 10pmol. A termociclagem ocorreu segundo Ishikawa (2011) e o produto da amplificação foi visualizado em gel de agarose a 1,5%, com auxílio de um transiluminador UV.

3.5 Análises dos dados

Os resultados obtidos foram tabulados no Excel. A porcentagem de amostras positivas de cada cadeia produtiva (Convencional e *antibiotic free*) foi comparada com o teste de Fisher. Foi considerada diferença estatística quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa geral de positividade foi de 55,19% (85/154). Todas as amostras positivas foram da cadeia avícola convencional, sendo 61,15% (85/139), enquanto as amostras da cadeia livre de antibióticos apresentaram 0% (0/15) de positividade (teste de Fisher $p < 0,0001$). Esses resultados preliminares indicam que a presença do gene integron 1 em uma parte dos isolados, tanto em bactérias fermentadoras quanto não fermentadoras de lactose, sugere uma ampla disseminação da resistência antimicrobiana entre diferentes tipos bacterianos. O uso de antibióticos na produção agrícola primária é apontado como um fator significativo para a

seleção de bactérias resistentes, que podem posteriormente contaminar alimentos e representar um risco à saúde pública. Esses achados destacam a importância de formular políticas eficazes de controle e regulamentação na indústria alimentícia, visando mitigar a propagação da resistência antimicrobiana.

5. CONCLUSÃO

Os resultados preliminares obtidos destacam uma disseminação preocupante da resistência antimicrobiana, particularmente no sistema de produção convencional. Esses dados ressaltam o impacto significativo do uso de antimicrobianos na seleção e propagação de genes de resistência, reforçando a urgência de formular políticas rigorosas de controle e regulamentação na indústria alimentícia. É crucial garantir que os produtos avícolas atendam aos mais altos padrões de qualidade, salvaguardando a saúde pública contra riscos potenciais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. **Relatório Anual 2023** Disponível em <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/04/Relatorio-Anual-2023.pdf> > Acesso 27/09/2023.

BIN ZAMAN S, HUSSAIN MA, NYE R, MEHTA V, MAMUN KT, HOSSAIN N. 2017. **A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing.** Cureus 9:e1403. Crossref. PubMed.

BLANCO J.E., BLANCO M., MORA A. & BLANCO J. 1997. **Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian Escherichia coli strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain.** J. Clin. Microbiol. 35:2184-2185.

COHEN M.L. 2000. **Changing patterns of infectious diseases.** Nature 406: 762-767

DIAS, Regiane C.B. et al. **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, v. 124, n. 4, p. 299-308, 2016.

FONSECA, É. L.; VICENTE, A. C. **Integron Functionality and Genome Innovation: An Update on the Subtle and Smart Strategy of Integrase and Gene Cassette Expression Regulation.** Microorganisms, v. 10, n. 2, p. 224, 20 jan. 2022.

GARCIA-MIGURA, L.; HENDRIKSEN, R.S.; FRAILE, L. AND AARESTRUP, F.M. 2014. **Antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in Europe: The missing link between consumption and resistance in veterinary medicine.** Vet Microbiol, 170: 1-9.2014.

GAZE WH, ZHANG L, ABDOUSLAM NA, HAWKEY PM, CALVO-BADO L, ROYLE J et al. (2011). **Impacts of anthropogenic activity on the ecology of class 1 integrons and integron-associated genes in the environment.** ISME J 5: 1253–1261.

GILLINGS MR, LABBATE M, SAJJAD A, GIGUERE NJ, HOLLEY MP, STOKES HW. (2009b). **Mobilization of a Tn402-like class 1 integron with a novel cassette array via flanking miniature inverted-repeat transposable element-like structures.** Appl Environ Microbiol 75: 6002–6004.

GILLINGS, M. R. **Integrons: past, present, and future.** Microbiology and molecular biology reviews : MMBR, v. 78, n. 2, p. 257–77, jun. 2014.

GILLINGS, M. R.; PAULSEN, I. T.; TETU, S. G. **Genomics and the evolution of antibiotic resistance**. Ann N Y Acad Sci, v. 1388, p. 92-107, 2017.

GUNNERS.S., JOHN W.L. & BENEDETTA A. 2004.**The antimicrobial resistance containment and surveillance approach: A public health tool**. WHO Bulletin 82(12).2004

GHALY TM, GILLINGS MR. 2018 **Mobile DNAs as ecologically and evolutionarily independent** units of life. Trends Microbiol. 26, 904-912. (doi:10.1016/j.tim.2018.05.008)

ISHIKAWA, S. 2011. **Simultaneous PCR detection of multiple classes of integron integrase genes for determining the presence of multidrug-resistant bacteria in environmental samples**. Current Microbiology 62, 1677-1681.

JOVÉ T, DA RE S, DENIS F, MAZEL D, PLOY MC. 2010. **Inverse correlation between promoter strength and excision activity in class 1 integrons**. PLoS Genet 6:e100079

KOTTWITZ, L.B.M.; SCHEFFER, M.C.; COSTA, L.M.D.; LEÃO, J.A.; BACK, A.; RODRIGUES, D.P.; MAGNANI, M.; OLIVEIRA, T.C.R.M. **Perfil de resistência a antimicrobianos, fagotipagem e caracterização molecular de cepas de Salmonella Enteritidis de origem avícola**. Ciências Agrárias, Londrina, v.33, n.2, p.705-712, 2012.

LABBATE M, CASE RJ, STOKES HW. 2009. **The integron/gene cassette system: an active player in bacterial adaptation**. Methods Mol Biol 532:103–125.

LEE, J. H., JEONG, S. H., CHA, S. & LEE, S. H. **A lack of drugs for antibiotic-resistant Gram-negative bacteria.** Nat. Rev. Drug Discov. 6, 29–40 (2007). doi:10.1038/nrd2201-c1

MAGNUSSON U. **Prudent and effective antimicrobial use in a diverse livestock and consumer's world.** J Anim Sci. 2020 Aug 18;98(Suppl 1):S4-S8. doi: 10.1093/jas/skaa148. PMID: 32810240; PMCID: PMC7531223.

NIKAIDO, H. 1976. **Outer membrane of Salmonella typhimurium. Transmembrane diffusion of some hydrophobic substances.** Biochim. Biophys. Acta 433:118-132.

NIKAIDO, H. 1989. **Role of the outer membrane of Gram Negative bacteria in antimicrobial resistance**, p. 1-34. In L. E. Bryan (ed.), Handbook of experimental pharmacology, vol. 91. Microbial resistance to drugs. Springer-Verlag KG, Berlin

PARTRIDGE SR, KWONG SM, FIRTH N, JENSEN SO. 2018. **Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance.** Clin Microbiol Rev 31:e00088-17.

PATERSON, D. L. (2006). **Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae.** American Journal of Infection Control, 34(5), S20–S28. doi:10.1016/j.ajic.2006.05.238

PATERSON DL, BONOMO RA. 2005. **Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update.** Clin Microbiol Rev 18:657–686.

POOLE, K. (2001). **Multidrug resistance in Gram-negative bacteria.** Current Opinion in Microbiology, 4(5), 500–508. doi:10.1016/s1369-5274(00)00242-3

PUI, Chai Fung et al. **Simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium in sliced fruits using multiplex PCR.** Food Control, v. 22, n. 2, p. 337-342, 2011.

RECCHIA GD, HALL RM. **Origins of the mobile gene cassettes found in integrons.** Trends Microbiol. 1997;5:389–394. doi: 10.1016/S0966-842X(97)01123-2.

RICE, L. B. **Progress and challenges in implementing the research on ESKAPE pathogens.** Infect. Control Hosp. Epidemiol. 31, S7–S10 (2010).

ROWE-MAGNUS DA, MAZEL D. **Integrons: natural tools for bacterial genome evolution.** Curr Opin Microbiol. 2001;4:565–569. doi: 10.1016/S1369-5274(00)00252-6.

SABBAGH, P., RAJABNIA, M., MAALI, A., AND FERDOSI-SHAHANDASHTI, E. (2021). **Integron and its role in antimicrobial resistance: A literature review on some bacterial pathogens.** Iran. J. Basic Med. Sci. 24:136. doi: 10.22038/ijbms.2020.48905.11208

VAARA M. **Agents that increase the permeability of the outer membrane.** Microbiol Rev. 1992 Sep;56(3):395-411. doi: 10.1128/mr.56.3.395-411.1992. PMID: 1406489; PMCID: PMC372877.

WHO **Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance** World Health Organization; 2024 Disponível em <<https://www.who.int/publications/i/item/9789241564748>> Acesso 27/09/2023

WHO. **Antimicrobial resistance** World Health Organization; **2021**

Disponível em

<<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

> . Acesso 12/10/2023

XU, Z., FLAVIN, M. T. & FLAVIN, J. **Combating multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections**. Exp. Opin. Invest. Drugs 23, 163–182 (2014)