

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE  
*Salmonella* spp. ISOLADAS DE AVES PRODUTORAS DE  
OVOS DE MESA NA REGIÃO DE BASTOS-SP**

**Valdinete Pereira Benevides**

Bióloga

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE  
*Salmonella* spp. ISOLADAS DE AVES PRODUTORAS DE  
OVOS DE MESA NA REGIÃO DE BASTOS-SP**

**Valdinete Pereira Benevides**

**Orientador: Prof. Dr. Angelo Berchieri Junior**

**Coorientadora: Dra. Marcela da Silva Rubio**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

**2019**

B465p Benevides, Valdinete Pereira  
Perfil de resistência a antimicrobianos de Salmonella spp. isoladas de aves produtoras de ovos de mesa na região de Bastos-SP / Valdinete Pereira Benevides. -- Jaboticabal, 2019  
70 p. : il., tabs., mapas  
  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal  
Orientador: Angelo Berchieri Junior  
Coorientadora: Marcela da Silva Rubio  
  
1. Salmonelose. 2. Agentes antimicrobianos. 3. Saúde Pública. 4. Ovos produção. 5. Drogas resistência em microrganismos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Salmonella* spp. ISOLADAS DE AVES PRODUTORAS DE OVOS DE MESA NA REGIÃO DE BASTOS-SP

**AUTORA: VALDINETE PEREIRA BENEVIDES**

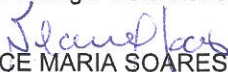
**ORIENTADOR: ANGELO BERCHIERI JUNIOR**

**COORDINADORA: MARCELA DA SILVA RUBIO**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Pós-Doutoranda MARCELA DA SILVA RUBIO  
Departamento de Patologia Veterinária-FCAV/UNESP / Jaboticabal/SP



Pesquisadora NILCE MARIA SOARES  
Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento / Instituto Biológico - Bastos/SP



Pesquisador Dr. RAFAEL ANTONIO CASARIN PENHA FILHO  
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 30 de julho de 2019

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**VALDINETE PEREIRA BENEVIDES** – Nascida em Riacho de Santana, Bahia, em 11 de dezembro de 1995, filha de Janete Maria Pereira e Valdivino Alves Benevides. Em 2013, ingressou em Biologia no Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB), obtendo o título de Bióloga em 2016. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica tendo desenvolvido projeto de pesquisa na área de Microbiologia, sob orientação da Prof. Dra. Patrícia Amoroso de Andrade e bolsista de iniciação a docência. Em agosto de 2017, ingressou no Mestrado na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal pelo Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob orientação do Prof. Dr. Angelo Berchieri Junior e coorientação da Dra. Marcela da Silva Rubio.

*“Education is the most powerful weapon  
which you can use to change the world.”*

***Nelson Mandela***

## **DEDICATÓRIA**

À minha mãe, Janete M. P. Oliveira e à minha irmã Karina P. N. da Silva, que dignamente me apresentaram à importância da família e ao caminho da honestidade e persistência.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente à Deus, que com sua infinita sabedoria, me deu saúde e força para superar as dificuldades.

À minha mãe (Janete M. P. Oliveira), que não mediu esforços para lutar por minha educação e sem seu amor e dedicação eu não teria esperança para seguir em frente.

À minha irmã (Karina P. N. da Silva) pelo apoio, amor e por acreditar em mim desde o primeiro instante.

Aos meus padrinhos (Nina e Argemiro), Edivaldo, Jessé e a Dona Lídia pelo carinho, dedicação e pelas orações.

Ao meu pai de criação Luzimar Neves da Silva, que tanto me deu força e incentivo ao longo da minha caminhada.

Aos meus demais familiares, que não mediram esforços para me ajudarem nessa etapa tão importante da minha vida.

Ao meu orientador Dr. Angelo Berchieri Junior pela oportunidade de realizar este trabalho ao lado de alguém que transpira sabedoria e por todo o conhecimento compartilhado e confiança a mim depositada.

À minha coorientadora Dra. Marcela da Silva Rubio, que me guiou durante os momentos difíceis e me auxiliou sempre que necessário.

Aos meus colegas do Laboratório de Ornitopatologia – UNESP/FCAV, que sempre estiveram ao meu lado compartilhando suas experiências de forma construtiva.

À Me. Adriana Maria de Almeida, que sempre me ajudou com sua experiência e conhecimento.

Ao Instituto Biológico da Secretária de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo em Bastos-SP, pelo auxílio na coleta das amostras, especialmente à Dra. Nilce Maria Soares e Dra. Elisabete Aparecida Lopes Guastalli.

Ao Centro de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, pelo auxílio na tipificação das estirpes, especialmente à Dra. Monique Ribeiro Tiba Casas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, pela concessão de bolsa de Mestrado, processo nº 2017/25743-7 e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária.

## SUMÁRIO

	Página
<b>CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA).....</b>	<b>iii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>v</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>1 Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Revisão de Literatura.....</b>	<b>2</b>
2.1 Descrição do gênero <i>Salmonella</i> .....	2
2.2 Paratifo aviário.....	3
2.3 Epidemiologia do Paratifo Aviário.....	5
2.4 Salmonelose humana de origem alimentar.....	7
2.5 Prevenção e controle das salmoneloses aviárias.....	8
2.6 Resistência bacteriana à antimicrobianos.....	11
2.6.1 Classes e mecanismos de ação dos antimicrobianos.....	12
2.6.2 Mecanismos de resistência antimicrobiana.....	14
2.6.2.1 Aquisição e disseminação de genes relacionados a resistência antimicrobiana.....	14
2.6.2.2 Inativação enzimática do antimicrobiano.....	15
2.6.2.3 Modificação no sítio alvo do antimicrobiano.....	16
2.6.2.4 Bombas de efluxo.....	16
2.6.2.5 Alteração da permeabilidade da membrana.....	17
2.6.3 Ocorrência de resistência à antimicrobianos para bactérias do gênero <i>Salmonella</i> em avicultura.....	17
2.6.4 <i>Salmonella</i> spp.: Resistência antimicrobiana em saúde pública.....	18
<b>3 Objetivos.....</b>	<b>20</b>
3.1 Geral.....	20

3.2 Específicos.....	20
<b>4 Material e métodos.....</b>	<b>20</b>
4.1 Colheita de amostras.....	20
4.2 Isolamento e identificação de <i>Salmonella</i> spp. ....	21
4.3 Identificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) do gênero <i>Salmonella</i> .....	23
4.4 Tipificação dos sorovares de <i>Salmonella</i> spp. ....	24
4.5 Teste de sensibilidade à antimicrobianos.....	24
4.5.1 Método de difusão em discos.....	24
4.5.2 Método de determinação da concentração inibitória mínima (MIC).....	25
4.5.3 Análise dos Resultados.....	27
<b>5 Resultados e discussão.....</b>	<b>27</b>
5.1 Isolamento e identificação de sorovares de <i>Salmonella</i> spp.....	29
5.2 Sensibilidade a antimicrobianos dos isolados de <i>Salmonella</i> spp.....	33
<b>6 Conclusão.....</b>	<b>40</b>
<b>Referências.....</b>	<b>40</b>

## CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Jaboticabal



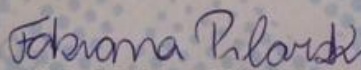
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Typification and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* spp. isolated from commercial laying hens in the Midwest of São Paulo state, Brazil**", protocolo nº 07058/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Angelo Berchieri Junior, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 13 de junho de 2019.

Vigência do Projeto	15/06/2019 a 31/07/2019
Espécie / Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> (postura comercial)
Nº de animais	2.008 (amostras de conteúdo cecal)
Peso / Idade	Não se aplica
Sexo	Fêmeas
Origem	Região centro-oeste do estado de São Paulo

Jaboticabal, 13 de junho de 2019.

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fabiana Pilarski  
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias  
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil  
tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Salmonella* spp.  
ISOLADAS DE AVES PRODUTORAS DE OVOS DE MESA NA REGIÃO DE  
BASTOS-SP**

**RESUMO** – Infecções paratíficas em aves são ocasionadas por sorovares de *Salmonella* spp., os quais podem acometer diversos hospedeiros animais e os seres humanos. A fim de se implementar programa de prevenção e controle para o patógeno, é imprescindível que se realize a identificação e tipificação do agente envolvido em cada surto, além de caracterização epidemiológica. Assim sendo, este estudo teve como objetivo pesquisar a presença e realizar caracterização do perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de *Salmonella* spp. isoladas de amostras de fezes cecais, oriundas de aves produtoras de ovos de mesa, provenientes de granjas localizadas na região centro-oeste do estado de São Paulo. Foram examinadas 2008 amostras de fezes provenientes de 151 granjas de postura comercial. Foram identificados 22 sorovares de *Salmonella* spp., em 80 das granjas visitadas (52,9 %), com maior prevalência para os sorovares S. Mbandaka (37,2 %) e S. Braenderup (12,8 %). Todos os isolados foram caracterizados como resistentes a pelo menos um dos 23 antimicrobianos testados, tendo sido observado maior recorrência para à estreptomicina (93,5 %) e sulfonamida (84,6 %), além de verificação de perfil de multirresistência (sorovares resistentes a três ou mais antimicrobianos de classes distintas) em 41 % dos isolados, sendo uma estirpe de S. Schwarzengrund resistente a 10 drogas antimicrobianas. Assim, a identificação de *Salmonella* spp. na produção avícola, fornece conhecimento epidemiológico para desenvolver medidas de prevenção e controle do patógeno, a fim de garantir a saúde das aves e impedir a salmonelose humana transmitida por alimentos.

**Palavras-chave:** Enfermidade veiculada por alimentos, multirresistência, salmonelose aviária, saúde pública, sensibilidade antimicrobiana.

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Salmonella* spp.  
ISOLADAS DE AVES PRODUTORAS DE OVOS DE MESA NA REGIÃO DE  
BASTOS-SP**

**ABSTRACT** – Avian paratyphoid infections are caused by several serovars of *Salmonella* spp. which can affect a wide range of hosts, like humans and animals. In order to implement a control program against this pathogen, it is indispensable to take notice of which serovar is facing up. Thus, this study was done to investigate the presence of *Salmonella* spp. and to identify the antimicrobial resistance profiles of the isolates in the Midwest of São Paulo state, which is known as the main region of Brazilian table egg production. For this, 2008 feces samples were collected from 151 commercial laying hen farms and were submitted to microbiological analysis. Twenty-two *Salmonella* serovars were identified in 80 (52.9 %) farms and the most prevalent were S. Mbandaka (37.2 %) and S. Braenderup (12.8 %). All strains were resistant to at least one of the 23 antimicrobials tested, being the highest levels of resistance against to streptomycin (93.5 %) and sulfonamide (84.6 %). Multiresistance was observed in 41 % of the isolates and the maximum resistance profile observed was to 10 drugs. Thus, the identification of *Salmonella* spp. in avian production provides epidemiological knowledge to develop prevention and control measurements of the pathogen in order to guarantee poultry health and to prevent human foodborne salmonellosis.

**Keywords:** Antimicrobial susceptibility, avian salmonellosis, food-borne disease, multiresistance, public health.

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1.</b> Iniciadores utilizados na reação de PCR para confirmação do gênero <i>Salmonella</i> spp. ....	23
<b>Tabela 2.</b> Antimicrobianos utilizados para a realização do teste de sensibilidade.....	25
<b>Tabela 3.</b> Distribuição dos municípios em que foram isolados <i>Salmonella</i> spp., no período de 2016 a 2017, provenientes de granjas produtoras de ovos de mesa da região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.....	28
<b>Tabela 4.</b> Estirpes de <i>Salmonella</i> spp. isoladas de amostras de fezes de aves proveinentes de granjas produtoras de ovos de mesa, pertencentes a região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.....	31
<b>Tabela 5.</b> Distribuição dos sorovares de <i>Salmonella</i> spp. perante os municípios em que foram isolados <i>Salmonella</i> spp., no período de 2016 a 2017, provenientes de granjas produtoras de ovos de mesa da região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.....	32
<b>Tabela 6.</b> Sensibilidade de amostras de <i>Salmonella</i> spp. à antimicrobianos, isoladas no período de 2016 à 2017, provenientes de granjas produtoras de ovos de mesa da região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.....	35
<b>Tabela 7.</b> Concentração inibitória mínima de Polimixina E para os sorovares de <i>Salmonella</i> spp. isolados.....	36
<b>Tabela 8.</b> Perfis de resistência de estirpes de <i>Salmonella</i> spp. à antimicrobianos, isolados no período de 2016 à 2017, provenientes de granjas produtoras de ovos de mesa da região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.....	39

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Fluxograma da metodologia de isolamento e identificação de <i>Salmonella</i> spp. ....	22
<b>Figura 2.</b> Esquema do teste de sensibilidade à antimicrobianos.....	26
<b>Figura 3.</b> Distribuição geográfica de granjas de postura comercial dos municípios pertencentes ao “Bolsão” de Bastos.....	28
<b>Figura 4.</b> Identificação do gênero <i>Salmonella</i> spp. pela técnica de PCR.....	30

## 1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira possui destaque nacional e internacional por produzir alimentos de qualidade (Donato et al., 2009; Samanta et al., 2011). Embora a avicultura de postura no Brasil não possua destaque no comércio internacional, exportando em torno de 0,26 % ao ano, o volume de ovos produzido tem crescido anualmente. No ano de 2018, a produção de ovos foi de 44,2 bilhões de unidades e o consumo per capita de 212 ovos, volume 10,4 % superior ao registrado no ano de 2017 (ABPA, 2019). O aumento da produção têm alavancado a necessidade de adequação e industrialização das granjas e fabricas de ovos, as quais tendem a seguir normas e diretrizes dos países importadores, com destaque para o controle da qualidade e de patógenos (Lagatta e Gameiro, 2017).

Dentre os microrganismos que podem causar prejuízos na indústria avícola, as bactérias do gênero *Salmonella* encontram-se amplamente distribuídas na natureza e conseguem infectar tanto humanos quanto animais. São de difícil controle, devido à diversidade de sorovares e hospedeiros e, complexidade epidemiológica gerando grande preocupação para as autoridades de vigilância em saúde nacional e internacionais (Berchieri Junior e Freitas Neto, 2009).

*Salmonella* spp. tem sido associada ao comprometimento da saúde animal e relatado anualmente entre os principais patógenos transmitidos por alimentos, principalmente decorrente do consumo de produtos avícolas (Shah et al., 2017). Tendo em vista as diversas fontes de infecção e a capacidade de disseminação entre os hospedeiros e vetores, a sua eliminação de granjas avícolas torna-se complexa e, muitas vezes, impraticável (Andino e Hanning, 2015). Por serem susceptíveis, as aves são consideradas como potenciais disseminadores da bactéria (Ma et al., 2018), o que torna imprescindível a realização de estudos epidemiológicos para conhecer a incidência de *Salmonella* spp. em granjas e nos produtos avícolas. Vários sorovares são encontrados em criações industriais de aves (Kottwitz et al., 2008; Salles et al., 2008; Freitas Neto et al., 2014; Perdoncini et al., 2014; Moraes et al., 2016), gerando preocupação em saúde pública, devido a sua associação as enfermidades veiculadas por alimentos (EVA) (SVS, 2015; EFSA, 2017; CDC, 2019).

Com o propósito de evitar a ocorrência de enfermidades bacterianas, a administração de antimicrobianos tem sido amplamente utilizados, tanto em medicina veterinária quanto em medicina humana (Molina-Santiago et al., 2018). O uso na produção animal não tem se limitado ao tratamento, sendo também para fins profiláticos e como aditivos melhoradores de desempenho (Antunes et al., 2016). O uso indiscriminado de antimicrobianos favorece a emergência de estirpes resistentes, acarretando risco para as saúdes animal e humana (Sapkota et al., 2014; Pande et al., 2015; Antunes et al., 2016; Rodríguez et al., 2017; Reis et al., 2018; Lima et al., 2019).

Informações sobre a presença de *Salmonella* spp. em planteis avícolas, contribuem para melhorar os conhecimentos epidemiológicos, favorecendo a adoção de medidas de biossegurança. Além disso, a caracterização da suscetibilidade de isolados de *Salmonella* spp., ressalta a necessidade de uso racional de antimicrobianos na avicultura e saúde pública, com a implementação de programas que priorizem minimização do surgimento de resistência antimicrobiana (Allen et al., 2013).

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Descrição do gênero *Salmonella***

Bactérias do gênero *Salmonella*, pertencem à família Enterobacteriaceae, são bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos e não formadores de esporos. Fermentam a glicose, produzem sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), são incapazes de fermentar lactose e sacarose. Comumente são móveis, por possuírem flagelos, com exceção de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Gallinarum biovars Gallinarum e Pullorum (Grimont et al., 2000).

Foram identificados mais de 2.659 sorovares de *Salmonella* spp., dos quais cerca de 100 já foram isolados tanto de seres humanos quanto de animais. O gênero é dividido em duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*, sendo que a última compreende mais de 99 % dos sorovares. *Salmonella enterica* é subdividida em seis subespécies (subesp.): *S. enterica* subesp. *enterica*, *S. enterica* subesp. *salamae*, *S. enterica* subesp. *arizonae*, *S. enterica* subesp. *diarizonae*, *S. enterica* subesp. *houtenae*, *S. enterica* subesp. *indica*. Dentre estas, destaca-se a subespécies

*enterica*, que compreende aproximadamente 60 % dos sorovares e estes podem infectar humanos e animais (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014). Provas bioquímicas definem o gênero e provas sorológicas complementares definem os sorovares, com base nos antígenos somáticos (O) e flagelares (H) (Grimont et al., 2000). O antígeno de virulência (Vi) pode ser identificado em sorovares específicos, compreendidos por *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* e *S. Dublin* (Grimont e Weill, 2007).

Em aves, podem ocorrer três enfermidades resultantes de infecções por *Salmonella* spp., o tifo aviário e a pulorose, causadas pelos biovares hospedeiro-específicos *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, respectivamente e o paratifo aviário, que corresponde à infecção por qualquer outro sorovar (Poppe, 2000). As salmonelas paratíficas não são específicas de aves e podem infectar diversos hospedeiros, como seres humanos e outros animais, o que dificulta os procedimentos para prevenção e controle. Assim sendo, a presença de salmonelas paratíficas na produção animal constitui-se em problema de saúde pública, com atenção voltada à avicultura industrial, em decorrência da expansão mundial da produção avícola (Berchieri Junior e Freitas Neto, 2009).

## **2.2 Paratifo aviário**

Salmonelas paratíficas, por não possuírem hospedeiro específico, podem infectar seres humanos e diversos animais, como mamíferos, anfíbios, répteis e aves (Berchieri Junior e Freitas Neto, 2009). Por se tratar de animais susceptíveis, produtos de origem avícola são veiculadores desses microrganismos com potencial de causar infecção alimentar em seres humanos (Omiccioli et al., 2009). Os sinais clínicos da enfermidade variam de acordo com a idade e a condição imunológica da ave, o sorovar e a intensidade da infecção. Em geral, são mais aparentes em aves jovens, cujo sistema imune ainda está imaturo (Gast e Holt, 1998; Gama et al., 2003).

A infecção da ave por salmonelas paratíficas pode ocorrer de forma horizontal e vertical. A transmissão horizontal ocorre de diversas formas. A bactéria pode adentrar no organismo da ave por penetração através da cavidade oral ou pela cloaca, além da inalação de poeira contaminada ou pela conjuntiva ocular. Ainda no incubatório, as aves podem se infectar por contato com aves, cascas ou

equipamentos contaminados. Água, ração e seus componentes, em especial os de origem animal, também contribuem para a introdução da bactéria em propriedades avícolas. Outras formas de disseminação do patógeno ocorrem devido circulação de veículos, seres humanos, aves silvestres, outros animais, moscas e roedores (Berchieri Junior e Freitas Neto, 2009; Andino e Hanning, 2015). A contaminação do ovo pode ocorrer pela transmissão vertical, seja durante a formação do ovo no aparelho reprodutivo (ovário e oviduto) ou pela sua passagem pela cloaca da ave infectada, ao entrar em contato com as excretas. Além disso, os ovos podem ser contaminados no ambiente, como, o contato direto com gaiola, ninho, cama, bandejas de transporte, esteiras de rolagem e embalagens (Poppe, 2000).

Em estudo realizado por Berchieri et al. (1985), foi relatado a ocorrência de 32 sorovares do gênero em amostras de farinha de origem animal destinado a fabricação de rações. Moraes et al. (2014), isolaram 10,5 % (126/1200) *Salmonella* spp. em amostras de farinha de origem animal, sendo que em farinha de carne os sorovares mais frequentes foram *S. Montevideo* (10,4 %), *S. Anatum* (9,3 %), *S. Cerro* (9,3 %), *S. Enteritidis* (8,1 %) e *S. Worthington* (8,1 %). Na de farinha de sangue foram isolados *S. enterica* subesp. *enterica* (O:3,10) (20 %), *S. Minnesota* (20 %), *S. Mbandaka* (20 %), *S. Worthington* (10 %), *S. Anatum* (10 %) e *S. Cerro* (10 %). Em farinhas de penas foram identificados *S. Enteritidis* (33,3 %), *S. Schwarzengrund* (33,3 %), *S. subesp. enterica* (O:3,10) 11,1 % (1/9) e *S. Cerro* (11 %). Os sorovares *S. Tennessee* (14,2 %), *S. Rissen* (14,2 %), *S. Schwarzengrund* (14,2 %), *S. Enteritidis* (9,5 %), *S. Ohio* (9,5 %), *S. Cerro* (4,7 %), *S. Montevideo* (4,7 %), *S. subesp. enterica* (O:4,5) (4,7 %), *S. subesp. enterica* (O:3,10) (4,7 %), *S. subesp. enterica* (O:9,12) (4,7 %) e *S. Johannesburg* (4,7 %) foram prevalentes nas farinhas de vísceras.

A disseminação da bactéria também pode ocorrer durante o processo de incubação, seja por ovos ou equipamentos contaminados, introduzindo nas granjas pintos de um dia de vida infectados (Cason et al., 1994). Ao realizar avaliação da presença de patógenos em frangos de corte com um dia de vida, Tessari et al. (2003) relataram o isolamento de *Salmonella* spp. em 24,62 % dos lotes, com prevalência dos sorovares *S. Enteritidis* e *S. subesp. enterica* 9,12. As caixas destinadas ao transporte de pintos de um dia, também são importantes perante a

veiculação da bactéria, tanto para a granja, quanto para incubatórios, que conforme análise realizada por Zancan et al. (2000) nesse tipo de material, obtiveram 77 % de amostras positivas para *Salmonella* spp. Barnhart et al. (1991), ao analisarem amostras de ovários de galinhas, identificaram os sorovares *S. Heidelberg* 56,5 %, *S. Agona* 13,0 %, *S. Oranienburg* 6,1 %, *S. Mbandaka* 5,2 %, *S. Kentucky* 3,5 %, *S. Montevideo* 3,5 %, *S. London* 2,6 %, e *S. Enteritidis* 2,4 %, o que pode possibilitar a transmissão da bactéria para o ovo durante a sua formação. Portanto, lotes positivos no primeiro dia de vida, permanecem positivos até o fim da vida produtiva das aves e, muitas vezes, a infecção passa despercebida, quando a monitoria do lote é feita inadequadamente (Gama et al., 2003).

### **2.3 Epidemiologia do Paratifo Aviário**

O fato de poder contaminar o meio ambiente e se manter viável por longos períodos, bactérias do gênero *Salmonella* ocasionam prejuízos em todas as escalas da produção de aves comerciais, tendo impacto negativo tanto no mercado interno, quanto nas exportações (Poppe, 2000; Berndt et al., 2007; Omiccioli et al., 2009). Desde a década de 1980, *S. Enteritidis* tem sido o principal sorovar associado a infecções alimentares provenientes de produtos avícolas no Brasil (Silva e Duarte, 2002). Porém, nos últimos anos tem ocorrido aumento do isolamento de outros sorovares, como *S. Heidelberg*, *S. Infantis*, *S. Hadar* e *S. Virchow* (Freitas Neto et al., 2010).

Apesar do consumo interno ainda ser considerado pequeno, o Brasil é o sétimo maior produtor de ovos, sendo que em 2017 foram produzidos 39,9 bilhões de unidades e o consumo per capita foi de 192 ovos/ano (ABPA, 2018). Em 2018, houve aumento de 10,4 % na produção (44,2 bilhões de unidades) e o consumo foi para 212 ovos per capita. Apesar do aumento da produção, apenas 0,26 % é destinado à exportação, muito embora o volume exportado tenha aumentado em 83,9 %, tendo passado de 5,434 mil toneladas em 2017, para 10,8 mil toneladas em 2018 (ABPA, 2019). Por se tratar de uma fonte proteica de qualidade, o ovo está cada vez mais presente na mesa dos brasileiros (Donato et al., 2009), o que torna necessário realizar pesquisa e controle de *Salmonella* spp. nos lotes de galinhas e

em ovos de mesa, a fim de garantir a qualidade dos produtos destinados ao mercado consumidor (Shinohara et al., 2008).

Em estudo sobre a prevalência de *Salmonella* spp. em amostras de casca, albúmen e gema de ovos brancos e marrons provenientes do estado de Goiás, isolou-se *S. Agona* (18,2 %), *S. enterica* subsp. *enterica* O: 4,5 (18,2 %), *S. Schwarzengrund* (18,2 %), *S. Cerro* (13,6 %), *S. Anatum* (13,6 %), *S. Enteritidis* (9,1 %), *S. Joanesburgo* (4,5 %) e *S. Corvallis* (4,5 %) (Moraes et al., 2016). Em estudo semelhante, Freitas Neto et al. (2014) avaliaram 340 amostras decorrentes de ovos para consumo provenientes da região de Jaboticabal-SP, os quais obtiveram 1,47 % de amostras positivas para *Salmonella* spp., sendo identificados os sorovares *S. enterica* subsp. *enterica* 4,12: r: -, *S. Mbandaka*, *S. enterica* subsp. *enterica* 6,7: z10: -, *S. Enteritidis* e *S. Havana* e *S. Braenderup*. Kottwitz et al. (2008) relataram que o sorovar mais prevalente em amostras de fezes de galinhas para postura comercial de ovos, com idade entre 17 a 76 semanas e provenientes de granjas do estado do Paraná, foi *S. Mbandaka* (11 %). No estado do Ceará, foram analisadas fezes frescas de galinhas para postura comercial de ovos, de oito granjas, onde o percentual de positividade para *Salmonella* spp. foi de 25 % dos lotes avaliados (Salles et al., 2008).

Assim como no Brasil, há variabilidade dentre os sorovares isolados em granjas de postura em outros países produtores de ovos, como EUA, Reino Unido e França, tendo-se relatado os sorovares *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Mbandaka*, *S. Havana*, *S. enterica* subsp. *enterica* 4,12:d:- (Castellan et al., 2004; Snow et al., 2007; Chemaly et al., 2009).

Embora as aves possam ser acometidas por diversos sorovares de salmonelas paratíficas, a manifestação de sinais clínicos é pouco evidente e em sua grande maioria é inexistente, tendo como principal problema a excreção fecal, que permite a contaminação do ambiente e dos produtos produzidos, seja carne ou ovos. No entanto, a contaminação do produto final acarretará em prejuízos associados a ocorrência de EVA em seres humanos, por ser uma das principais bactérias de importância em saúde pública (Shinohara et al., 2008; Celis-Estupiñan et al., 2016).

## 2.4 Salmonelose humana de origem alimentar

Em revisão de literatura conduzida por Taylor et al. (2001), foram identificados 1.415 espécies de microrganismos infecciosos que acometem seres humanos, dos quais 61 % são patógenos zoonóticos. Dentre as bactérias associadas às infecções alimentares, as do gênero *Salmonella* tem sido as mais associadas as EVA em seres humanos, devido ao consumo de água ou alimentos crus contaminados ou mal processados, como vegetais, frutas, ovos, leite e carne provenientes de bovinos, aves, suínos, peixes e frutos do mar (Shinohara et al., 2008). A infecção pode provocar um quadro de enterite, com diferentes níveis de patogenicidade, dependendo do sorovar e da imunidade do hospedeiro (Barletta et al., 2013). EVA têm sido constantemente associado ao consumo de produtos avícolas, como carne e ovos (Tavechio et al., 2002; Taylor et al., 2015; WHO, 2017).

A incidência da enfermidade em países industrializados é frequentemente alta (Ma et al., 2014). Ao menos 1,3 bilhão de casos de salmoneloses humanas de origem alimentar são reportadas anualmente no mundo, nos quais, cerca de 3 milhões de pacientes vêm a óbito (CDC, 2018). Na União Europeia (EU), dentre os 320 mil casos de enfermidades veiculadas por alimentos reportados anualmente, 100 mil (31,2 %) deles são associados a bactérias do gênero *Salmonella*, com 35 casos notificados a cada 100 mil habitantes. No período entre 2004 e 2015, após a implantação dos programas de prevenção e controle, observou-se a redução de 50 % na incidência de salmoneloses humanas nos países pertencentes a União Europeia (EU, 2016). De acordo com o “European Food Safety Authority” (EFSA), no ano de 2017 foram reportados 67.418 casos de salmoneloses humana, em que os sorovares com maior prevalência foram *S. Enteritidis* (48,5 %), *S. Typhimurium* (13,4 %), *S. Typhimurium* monofásica 1.4.[5].12:i:- (8,4 %), *S. Infantis* (2,4 %), *S. Newport* (1,1 %), *S. Derby*, *S. Kentucky* e *S. Stanley* (0,8 %), *S. Virchow* e *S. Saintpaul* (0,7 %), *S. Agona*, *S. Paratyphi B var. Java* e *S. Braenderup* (0,6 %) e *S. Panama* (0,5 %) (EFSA, 2017).

Nos Estados Unidos da América (EUA), as bactérias provenientes do gênero *Salmonella* ocupam o segundo lugar dentre os isolados provenientes de surtos de EVA em seres humanos. De acordo com o “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC), estima-se que, os surtos de EVA provocam média anual de 1,2

milhão de enfermos, 23 mil hospitalizações e 450 mortes. Ao analisar a incidência dos sorovares envolvidos nesses surtos de salmonelose, os relatados com maior frequência foram *S. Enteritidis* (19 %), *S. Typhimurium* (11 %) e *S. Newport* (10 %) (CDC, 2019).

No Brasil, a grande maioria dos casos de salmoneloses não são notificados, impedindo que o real cenário epidemiológico seja evidenciado (Ebling e Rossmann, 2016). Apesar disso, foi reportado pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), que no ano de 2015 houve redução de 35 % dos surtos de EVA no Brasil. Contudo, a identificação dos patógenos envolvidos foi realizada em apenas 42,2 % dos surtos de EVA sendo que os patógenos mais prevalentes pertenciam ao gênero *Salmonella* (14,3 %). Acredita-se que essa porcentagem seja ainda maior, devido à falta de notificação e dificuldade na identificação do agente infeccioso (SVS, 2015).

Diversos sorovares já foram identificados causando enfermidades alimentares no Brasil. No estado de São Paulo, entre os anos de 1950 e 1990 foram isoladas 31.517 estirpes de *Salmonella* spp. provenientes de infecções humanas (Taunay et al., 1996). De acordo com Silva e Duarte (2002), entre 1970 e o início dos anos 1990, os sorovares os mais frequentes, isolados com maior frequência no estado de São Paulo, foram *S. Typhimurium* e *S. Agona*. Conforme descrito por Berchieri Junior e Penha Filho (2016), em levantamento epidemiológico realizado pelo Instituto Adolfo Lutz, no ano de 2014, *S. Typhimurium* (63,9 %) e *S. Enteritidis* (15 %) foram os isolados com maior prevalência dentre os surtos de salmonelose humana ocorridos no Brasil.

## **2.5 Prevenção e controle das salmoneloses aviárias**

Em 1994, foi elaborado o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) (Brasil, 1994), que objetiva que as granjas sejam livres ou controladas para *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*. Dessa forma, a Instrução Normativa (IN) nº 78, de 3 de novembro de 2003 visa que lotes de reprodutoras positivos para os sorovares *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* devem ter seus animais submetidos ao abate sanitário e os ovos eliminados. Contudo, o isolamento de outros sorovares em lotes de aves de produção, não requerem a adoção das medidas de controle descritas na IN nº 78

(BRASIL, 2003). Embora o Brasil não disponha de legislação específica para a produção de ovos, a resolução nº 005, de julho de 1991, estabelece como exigência do padrão de qualidade do ovo a ser comercializado, ausência de *Salmonella* spp. em 25g de ovo integral líquido ou desidratado (Brasil, 1991).

Com o intuito de minimizar a ocorrência de enfermidades bacterianas, os antimicrobianos possuem reconhecido destaque na rotina médica, tanto veterinária, quanto humana. Dentre as classes mais utilizadas, incluem  $\beta$ -lactâmicos, tetraciclina, aminoglicosídeos, anfenicóis, quinolonas, fluoroquinolonas e sulfonamidas (Moreno-Bondi et al., 2009). No entanto, o tratamento das salmoneloses é realizado somente na medicina humana, tendo mostrado ser ineficaz na produção animal, ao reduzir mortalidade no lote sem eliminação do patógeno. Na avicultura, a antibioticoterapia é utilizada em infecções por outros microrganismos, como em quadros de onfalite e enfermidades respiratórias.

Na medicina veterinária, além da sua utilização para fins de tratamento, durante muitos anos os antimicrobianos foram utilizados como profilático e melhorador de desempenho (Antunes et al., 2016). A classe dos  $\beta$ -lactâmicos são empregados em medicina veterinária para tratamento de infecções por enterobactérias, além das fluoroquinolonas e quinolonas (Ferreira et al., 2016). Relatos de resistência à ampicilina e sulfametoxazol-trimetoprim tem aumentado ao longo dos anos e, dessa forma, favoreceram a utilização de ciprofloxacina e cefalosporinas de amplo espectro, medicamentos que são utilizados para o tratamento das salmoneloses em seres humanos (Chen et al., 2013; Antunes et al., 2016). Além disso, após a liberação do uso de fluoroquinolonas na produção animal, foram isoladas estirpes de *Salmonella* spp. resistentes à ciprofloxacina em produtos de origem animal e em seres humanos (Cosby et al., 2015).

Seu uso indiscriminado tem favorecido o surgimento de resistência em microrganismos, o que inclui bactérias do gênero *Salmonella* (Sapkota et al., 2014; Pande et al., 2015; Antunes et al., 2016; Grant et al., 2016). Em consequência, no ano de 2006, a União Europeia banuiu o uso de qualquer antimicrobiano como melhorador de desempenho na produção animal, tanto para a sua produção, quanto para a importação de produtos de origem animal. Dessa forma, os países

exportadores tiveram que se adequar às medidas impostas, a fim de não perderem a comercialização desses produtos (Castanon, 2007).

Embora considerado como país emergente, o Brasil destaca-se entre os maiores produtores e exportadores do setor avícola (ABPA, 2019). Dessa forma, o MAPA, por meio da Lei 6.198, de 26/12/1974 regulamentada pelo Decreto 6.296, de 11/12/2007, é o órgão responsável pela inspeção e fiscalização da utilização de aditivos na alimentação animal (Brasil, 2007). Desde a década de 1980, o MAPA têm estabelecido normativas que proíbem a utilização de aditivos melhoradores de desempenho na produção de aves, tendo banido a avoparcina (Brasil, 1998), cloranfenicol e nitrofuranos (Brasil, 2003), anfenicóis, tetraciclina, beta lactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas sistêmicas (Brasil, 2009) e espiramicina e eritromicina (Brasil, 2012). Recentemente, foi publicada a IN nº 45, em 30 de novembro de 2016, a qual descreve a proibição da importação e fabricação de colistina destinada à nutrição animal (Brasil, 2016).

Em relatório publicado pelo MAPA, referente ao ano de 2017, foram descritos os resultados obtidos para não conformidades em amostras de produtos de origem animal, realizado pelo Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC/Animal). Dentre as amostras de produtos de origem avícola, foram obtidas 1,21 % (12/3.894) de não conformidades, das quais 1,03 % (6/584) foram proveniente de ovos e 0,18 % (6/3.310) de aves de corte. Ao discriminar as substâncias encontradas, verificou-se a presença de enrofloxacina (1,81 %), sulquinoxalina (0,17 %), sulfametazina (0,36 %), doxiciclina (0,08 %), nicarbazina (0,85 %) e arsênio (0,51 %). Tal relato evidencia a preocupação que se tem decorrente da ingestão desse tipo de produto, o que pode contribuir com o aumento da ocorrência de bactérias resistentes, pois apenas uma das substâncias encontradas não era proveniente de antimicrobianos (MAPA, 2018).

Dessa forma, a adoção de medidas preventivas objetivam a melhoria da sanidade e dos índices produtivos, além da minimização da utilização de fármacos na produção animal, com o emprego de programas de vacinação e aditivos alternativos, como probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos e aditivos fitogênicos (Allen et al., 2013; Diaz-Sanchez et al., 2015). Esses produtos objetivam o equilíbrio da microbiota intestinal, a redução da carga de patógenos no trato

digestivo, a otimização da digestão, a estimulação do apetite e a secreção de enzimas digestivas endógenas, que auxiliam na ativação da resposta imune intestinal (Ramos et al., 2011; Toghyani et al., 2011; Kopecky et al., 2012).

A vacinação também vem apresentando eficácia na prevenção das salmoneloses em aves comerciais. De acordo com a instrução normativa nº 8, de 17 de fevereiro de 2017 (Brasil, 2017b), estabelecimentos avícolas de postura comercial devem manter alojadas somente aves vacinadas contra *Salmonella* Enteritidis, o que auxiliou na diminuição da ocorrência do sorovar na produção de aves para postura.

Além disso, o MAPA, elaborou o Programa Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos na Agropecuária (AgroPrevine), que visa o desenvolvimento de medidas de prevenção e controle para bactérias resistentes aos antimicrobianos utilizados na agropecuária. Tais ações propõem a realização de educação sanitária, monitoria de lotes e estudos epidemiológicos (Brasil, 2017a).

## **2.6 Resistência bacteriana à antimicrobianos**

Com a crescente preocupação voltada às infecções bacterianas, a ocorrência de resistência à antimicrobianos também tem chamado a atenção dos setores de vigilância em saúde, tanto humana, quanto animal e, de pesquisadores em diversos países. A resistência bacteriana é definida pela capacidade do microrganismo multiplicar-se ou manter-se na presença de determinado antimicrobiano. Para isso, existem diversos mecanismos que permitem a expressão de resistência por parte das bactérias, como inativação enzimática, modificações no sítio alvo, ativação de bombas de efluxo e alterações na permeabilidade celular (Alekshun e Levy, 2007; Alterthum, 2008).

Em estudo realizado no Brasil, com isolados de *Escherichia coli*, provenientes da microbiota de frangos de corte, 100 % apresentaram-se resistentes às cefalosporinas de terceira geração, ao ácido nalidíxico e à ciprofloxacina, 85 % para tetraciclina, 23 % para gentamicina e 15 % para cloranfenicol (Ferreira et al., 2016). Nos EUA, os índices de resistência à tetraciclina passaram de 9 % em 1980 para 24 % em 1990, enquanto que no mesmo período à ampicilina passou de 10 % para 14

% (Smith et al., 2002). Quando há resistência a esses antimicrobianos, opta-se por realizar o tratamento com a classe dos carbapenêmicos (Jean et al., 2005). Entretanto, a partir de 2010 iniciou-se relatos de estirpes resistentes à essa classe de antimicrobianos, com o isolamento de *E. coli* resistente (Su et al., 2012).

Dessa forma, o uso incorreto dos antimicrobianos tanto na medicina humana, quanto na veterinária, teve como consequência à seleção de bactérias resistentes e multirresistentes, inclusive para as drogas tidas como de primeira escolha para tratamento de seres humanos, com destaque para as quinolonas, fluoroquinolonas e as cefalosporina de terceira geração (Burke et al., 2014).

### **2.6.1 Classes e mecanismos de ação dos antimicrobianos**

As quinolonas e fluoroquinolonas são antimicrobianos caracterizados como bactericidas e sintéticos, que agem na inibição da enzima DNA-girase, que impede a replicação do DNA bacteriano. As quinolonas são fármacos de eleição para o tratamento de infecções por bactérias da família Enterobacteriaceae, tendo como destaques o ácido nalidíxico, ciprofloxacina, norfloxacina e ofloxacina (Lee e Kanatani, 1999; Heuer et al., 2009; Bolon, 2011). As fluoroquinolonas foram desenvolvidas em 1980, em que foi acrescentado uma molécula de flúor na região do carbono-6 das quinolonas, melhorando a eficácia do antimicrobiano em penetrar a membrana celular, sendo classificado como de amplo espectro de ação (Madigan et al., 2004; Tortora et al., 2017). Na medicina veterinária, os fármacos pertencentes a essa classe mais utilizados são a enrofloxacin e sarafloxacin (Cruz et al., 2012).

A classe dos  $\beta$ -lactâmicos é dividida em quatro grupos principais, representados pelas penicilinas, as cefalosporinas, os monobactâmicos e os carbapenêmicos. Apresenta como característica a presença de anel  $\beta$ -lactâmico em sua estrutura molecular (Schneider e Sahl, 2010). Tem como mecanismo de ação a inibição das proteínas PBP's (*penicillinbinding-proteins*), que impedem a formação das ligações entre as cadeias peptídicas de peptidoglicano (*cross-linking*) e afeta a fase final da biossíntese de peptidoglicano (Suarez e Gudiol, 2009). As cefalosporinas de espectro estendido e os carbapenêmicos são os antimicrobianos de primeira escolha para o tratamento de infecções severas (Coque et al., 2008). No entanto, índices de resistência a essa classe de antimicrobiano tem sido reportada

perante isolados de *Salmonella* spp. decorrentes de infecções humanas e de animais de produção (Liakopoulos et al., 2016).

Os aminoglicosídeos possuem ação bactericida e atuam no ribossomo de bactérias Gram-negativas aeróbias. São sintetizados a partir do metabolismo de determinados fungos, como *Streptomyces* spp., *Micromonospora* spp. e *Bacillus* spp. Os principais fármacos da classe são neomicina, amicacina, gentamicina e estreptomicina (Spinosa et al., 2011). Esses dois últimos, atuam nas primeiras etapas da síntese proteica, modificando a conformação da porção 30S do ribossomo 70S, o que resulta na leitura incorreta do código genético e, conseqüentemente, altera a atividade da membrana celular em relação à saída de constituintes essenciais para o funcionamento da célula, com posterior morte celular (Kotra et al., 2000).

Alguns antimicrobianos interferem no metabolismo celular, como por exemplo as sulfonamidas ou quando da sua combinação com o trimetoprim, que podem inibir a síntese do ácido fólico. O ácido fólico é uma coenzima que atua na síntese de proteínas, DNA e RNA. A estrutura das sulfas é análoga ao ácido paraminobenzoico (PABA), precursor do ácido fólico, que ocasiona ligação competitiva à enzima destinada ao PABA, ao resultar na inibição de ácido fólico. A combinação de sulfametoxazol e trimetoprim, que atuam em sinergismo, ampliam o seu espectro de ação e reduzem o surgimento de bactérias resistentes (Tortora et al., 2017).

As tetraciclinas são compostos semissintéticos e isolados a partir do metabolismo do fungo *Streptomyces* spp. Apresentam efeito bacteriostático em bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, por conta da sua atuação na inibição da síntese proteica, ao atuar na ligação do tRNA, recombinao aminoácidos à porção 30S do ribossomo bacteriano 70S, o que evita a incorporação de aminoácidos específicos as cadeias de polipeptídeos (Tortora et al., 2017). A oxitetraciclina, tetraciclina e clortetraciclina são os antimicrobianos da classe mais utilizados na medicina humana e veterinária. Estes são utilizados para o tratamento de infecções, principalmente respiratórias e gastrointestinais, além de ter sido utilizado como melhorador de desempenho na produção animal (Liu et al., 2018).

Em 1969, foi sintetizado a partir de metabólito secundário de várias espécies de *Streptomyces* spp., o antimicrobiano fosfomicina (Hendlin et al., 1969). O

mecanismo de ação da fosfomicina baseia-se na sua atuação como análogo do fosfoenolpiruvato, ligando-se à UDP-N-acetilglucosamina-3-O-enolpiruvil transferase, afetando a etapa inicial da biosíntese da parede celular (Kahan et al., 1974). A ocorrência de resistência a fosfomicina não tem aumentado significativamente ao longo dos anos, assim como não se tem notado resistência cruzada com outras classes de antimicrobianos (Zamudio-Chávez et al., 2017).

As polimixinas são antimicrobianos polipeptídios catiônicos cíclicos, descobertos em 1947. Atuam no lipopolissacarídeo da membrana externa das bactérias Gram-negativas, deslocando competitivamente os íons de cálcio e magnésio, que estabilizam a membrana. Como consequência, ocorre o aumento da permeabilidade da membrana, com perda do conteúdo celular, seguido de morte da bactéria. Na década de 1970 seu uso foi suspenso por conta da sua toxicidade, no entanto, em decorrência do aparecimento de bactérias multirresistentes, a utilização das polimixinas retornou na década de 1990 (Storm et al., 1977; Poirel et al., 2017). A classe é representada por cinco fármacos, denominados de polimixinas A, B, C, D e E (Falagas e Kasiakou, 2006).

## **2.6.2 Mecanismos de resistência antimicrobiana**

A ocorrência de resistência antimicrobiana pode ser de forma intrínseca, determinada por característica estrutural ou funcional, o que resulta em ação ineficiente do antimicrobiano ou pela aquisição de material genético exógeno, contendo genes de resistência, adquiridos por mecanismos de transferência horizontal (Blair et al., 2015). Existe ainda a resistência caracterizada por mutações, induzidas por intermédio de agentes mutagênicos ou durante o processo de replicação celular (Baptista, 2013).

### **2.6.2.1 Aquisição e disseminação de genes relacionados a resistência antimicrobiana**

A aquisição de genes de resistência é dependente da sua ocorrência, evolução e disseminação de elementos genéticos (Miriagou et al., 2006). Também podem adquirir resistência gênica pela disseminação de genes via plasmídio. Dessa forma, bactérias patogênicas e comensais transferem frequentemente genes que

podem carrear resistência à antimicrobianos (Goldstein et al, 2001; Nield et al., 2001). Estes genes encontram-se em transposons, que se caracterizam por elementos genéticos organizados em sequências de DNA que codificam a enzima transposase, o que possibilita a introdução do transposon ao plasmídeo ou cromossomo (O'Brien, 2002; Carattoli, 2003).

Os integrons, assim como os plasmídeos, são elementos genéticos móveis associados à resistência antimicrobiana. Em bactérias patogênicas os integrons de “classe 1” são os mais encontrados, no entanto até o momento foram referidos quatro classes de integrons (Carattoli, 2001), que podem ser encontrados em plasmídeos, transposons e no cromossomo bacteriano (Fluit e Schmitz, 2004). Estes conseguem codificar um sistema de recombinação sítio-específico, tendo como função identificar e recolher cassetes de genes exógenos e produzir a enzima relacionada à recombinação, nomeada como *integrase* (Hall e Collis, 1995; Fluit, 2005).

Nesse contexto, após a introdução dos genes de resistência antimicrobiana, pode ocorrer à translocação e/ou persistência, sem a necessidade da pressão seletiva constante (Marshall et al. 1999). Além disso, a presença desses genes no genoma bacteriano, não resistência à determinado antimicrobiano, sendo necessário a sua expressão fenotípica (Cosentino et al., 2010).

### **2.6.2.2 Inativação enzimática do antimicrobiano**

Algumas bactérias são capazes de produzir enzimas que degradam ou inativam antimicrobianos, esse processo é chamado de mecanismo enzimático de resistência. As penicilinas e as cefalosporinas são os principais antimicrobianos afetados pela destruição ou inativação enzimática. As reações enzimáticas que podem ocorrer são a hidrólise, a transferência de um grupo químico ou o processo de oxirredução. Em bactérias resistentes, ocorre a produção da enzima  $\beta$ -lactamase, que hidrolisa o anel  $\beta$ -lactâmico das penicilinas, cefalosporinas e carbapenemos. Aproximadamente 200 variações de  $\beta$ -lactamase foram identificadas, adaptadas a variantes estruturais do anel  $\beta$ -lactâmico. Dentre estas, destaca-se a enzima AmpC, codificada pelo gene *bla<sub>CMY</sub>*, que pode conferir resistência a ampicilina, ceftiofur e ceftriaxona (Tortora et al., 2017).

A resistência aos aminoglicosídeos envolve a ação de três enzimas modificadoras, que alteram a estrutura covalente do antimicrobiano, ao diminuir a eficácia de ligação ribossomal. Estas são nomeadas de aminoglicosídeo acetiltransferases, aminoglicosídeo fosfotransferases e aminoglicosídeo nucleotidiltransferases, codificadas pelos genes *aac*, *aph* e *aad*, respectivamente (Jana e Deb, 2006; Wachino e Arakawa, 2012). Estes genes apresentam ampla habilidade de transferência, por estarem localizados em plasmídios, transposons e integrons (Dijkshoorn et al., 2007).

### **2.6.2.3 Modificação no sítio alvo do antimicrobiano**

Diversos antimicrobianos se ligam, especificamente, aos seus sítios alvos com alta afinidade. No entanto, o mecanismo de resistência por alteração nessas regiões caracteriza-se pela diminuição ou ausência de afinidade do antimicrobiano ao local de ação, sem que as funções da bactéria sejam modificadas. Esse mecanismo de resistência ocorre em consequência da alteração estrutural do peptidoglicano, por interferência na síntese de proteínas ou da síntese de DNA (Blair et al., 2015). De acordo com Tortora et al. (2017), os antimicrobianos acometidos por esse tipo de mecanismo são os aminoglicosídeos, tetraciclina e macrolídeos.

### **2.6.2.4 Bombas de efluxo**

Na membrana plasmática das bactérias Gram-negativas encontram-se proteínas, caracterizadas como bombas de efluxo, que atuam na eliminação de substâncias tóxicas decorrentes do metabolismo bacteriano. Também atuam na ejeção dos antimicrobianos, impossibilitando que a sua concentração seja efetiva (transporte ativo do meio intracelular, para o extracelular) (Ribeiro e Cortina, 2016). São classificadas em cinco categorias de transportadores, sendo *major facilitator family* (MFS), *multidrug and toxic efflux* (MATE), *resistance nodulation division* (RND), *small multidrug resistance* (SMR) e *adenosine triphosphate binding cassette* (ABC). Embora tenha predileção por diferentes classes de antimicrobianos, é relacionado principalmente as tetraciclina e fluoroquinolonas (Baptista, 2013).

### 2.6.2.5 Alteração da permeabilidade da membrana

A penetração do antimicrobiano na membrana celular das bactérias é dependente das características físico-químicas da molécula como, polaridade e tamanho. Pode ocorrer por difusão simples através da bicamada fosfolipídica, por difusão facilitada mediada por proteínas porinas ou por *self promoted uptake* (Mayers, 2009). Em bactérias Gram-negativas, os antimicrobianos como,  $\beta$ -lactâmicos, aminoglicosídeos, cloranfenicol e fluoroquinolonas podem ter a permeabilidade da membrana alterada, por conta de alterações na quantidade ou função de porinas e no lipopolissacarídeo (LPS), o que induz resistência da bactéria (Dzidic et al., 2008).

### 2.6.3 Ocorrência de resistência à antimicrobianos em bactérias do gênero *Salmonella* em avicultura

De acordo com Fàbrega e Vila (2013), as salmoneloses geralmente não são submetidas ao tratamento com antimicrobianos, por conta do custo elevado e da pouca efetividade para animais de produção. O emprego de antibióticoterapia para aves comerciais acometidas por *Salmonella* spp. tem se mostrado ineficaz, uma vez que pode reduzir a mortalidade, mas não impedirá que a ave permaneça portadora do patógeno. Ademais, os portadores podem excretar o microrganismo por mais tempo em relação aos animais não tratados (Berchieri Junior e Freitas Neto, 2009; Hirsh, 2009). A origem e disseminação de isolados de salmonelas paratíficas provenientes de alimentos e resistentes a antimicrobianos, têm se tornado importante fator de risco à saúde pública, em particular nos países em desenvolvimento, como o Brasil (Yang et al., 2010; Tamang et al., 2011). Devido à ocorrência de resistência antimicrobiana associados a surtos de EVA, tem delimitado a comercialização e exportação de produtos, como carne de frango e ovos (Shah et al., 2017).

Estudos realizados no Brasil demonstraram aumento da incidência de resistência à antimicrobianos para estirpes de *Salmonella* spp. ao longo dos anos. Berchieri Junior et al. (1985), ao avaliarem amostras provenientes de farinha de origem animal destinadas à fabricação de ração, foram isoladas 139 estirpes de *Salmonella* spp., pertencentes a 32 sorovares. Dentre os isolados, observou-se 100

% de resistência a bacitracina, penicilina e sulfazotrim, 100 % de sensibilidade a sulfato de colistina e cloranfenicol e sensibilidade intermediária a tetraciclina (77,1 %), ácido nalidíxico (18 %), nitrofurantoína (2,16 %), amicacina (1,44 %) e cefoxitina (0,7 %). Em estudos posteriores, Cardoso et al. (2006) relataram resistência em todos os 80 isolados de *S. Enteritidis* provenientes de carcaças de frango, para colistina e tetraciclina. Cortez et al. (2006), ao testarem 29 estirpes de salmonelas paratíficas isoladas em abatedouros de aves, observaram que 86,2 % delas foram resistentes aos antimicrobianos aztreonam e ampicilina, 72,6 % à tetraciclina e 55,2 % à amoxicilina/ácido clavulânico e trimetoprim/sulfametoxazol.

Galdino et al. (2013), ao avaliar isolados de *Salmonella* spp. provenientes de frango de corte no estado de São Paulo, demonstraram a presença de estirpes resistentes a pelo menos um dos 11 antimicrobianos testados, com maior predominância para a amoxicilina (27,7 %) e sulfonamidas com trimetoprim (11 %). Dentre os 18 isolados, uma estirpe de *S. Typhimurium* apresentou multirresistência. Em estudo conduzido por Musgrove et al. (2006), relataram que 60 % das estirpes de *Salmonella* spp. isoladas de cascas de ovos foram resistentes a mais de 11 antimicrobianos, principalmente quando provenientes de *S. Typhimurium* (12 antimicrobianos), que juntamente com *S. Enteritidis* são os sorovares mais comumente isolados em surtos de EVA em seres humanos no Brasil e em outros países (SVS, 2015; EU, 2017; CDC, 2019).

#### **2.6.4 *Salmonella* spp.: Resistência antimicrobiana em saúde pública**

A ocorrência de resistência à antimicrobianos tem sido um problema à saúde pública, principalmente quando da ocorrência em agentes zoonóticos, como *Salmonella* spp. (Moraes et al., 2014). Dessa forma, a incidência de surtos de salmonelose em seres humanos pode colaborar para a administração indiscriminada de antimicrobianos, fato que contribui para o surgimento de estirpes resistentes (Hur et al., 2012).

Em monitoramento feito na Europa, a ocorrência de resistência em isolados de *Salmonella* spp. provenientes de infecção em seres humanos aumentou, representando em 2000, 57,0 % de estirpes resistentes à sulfonamidas, tetraciclina, ampicilina e estreptomicina, observando um índice de 66,0 % em 2004 (Meakins et

al., 2008). Na Dinamarca, Skov et al. (2007) isolaram 4.081 estirpes de *Salmonella* spp. em pacientes hospitalizados, identificando 58 estirpes referentes ao sorovar *S. Saintpaul*, nos quais 19 % foram multirresistente e 7 % apresentaram resistência ao ácido nalidixico.

Já nos países em desenvolvimento, na região sul do Brasil, das 280 estirpes de *Salmonella* spp., provenientes de pacientes hospitalizados, 59,2 % apresentaram resistência ao ácido nalidixico, 37,6 % a tetraciclina, 35,1 % a ampicilina, 34,2 % a nitrofurantoína, 32,6 % a estreptomicina, 19,1 % a gentamicina, 15,6 % a ciprofloxacina, 15,2 % ao cloranfenicol, 11,8 % ao trimetoprim / sulfametoxazol, 2,8 % a cefoxitina e 1,4 % a ceftazidima. Os autores relataram o isolamento dos sorovares *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Newport*, *S. Panama*, *S. Agona*, *S. Give*, *S. Braenderup*, *S. Corvallis*, *S. Derby*, *S. Saintpaul*, *S. Oranienburg* e *S. Mbandaka*, os quais apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados (Reis et al., 2018).

Bouallègue-Godet et al. (2005), ao avaliarem estirpes de *S. Livingstone* em bebês hospitalizados na Tunísia, relataram resistência para ceftriaxona, ceftazidima, aminoglicosídeos (canamicina, tobramicina, netilmicina, gentamicina e amicacina) e sulfametoxazol-trimetoprim. Na Colômbia, no período entre 2005 e 2011, foram isolados de pacientes que apresentavam diarreia aguda 4.010 estirpes de *Salmonella* spp., identificando-se 92 sorovares, que apresentaram resistência à tetraciclina, ampicilina, sulfametoxazol-trimetoprim, cloranfenicol, amoxicilina/ácido clavulânico e ácido nalidixico (Rodríguez et al., 2017).

As enfermidades causadas por *Salmonella* spp. na avicultura, representam significativas perdas econômicas, em que, de acordo com Lagatta e Gameiro (2017), a aplicação de medidas de biossegurança nas granjas dispõem de baixo custo (2,09 %), quando comparado aos custos gerados com ocorrência de infecção nas aves, com o descarte de lotes positivos e os produtos produzidos. Perdas econômicas também podem estar relacionadas à ocorrência de resistência antimicrobiana. De acordo com O'Neill (2016), até o ano de 2050 é estimado 10 milhões de óbitos decorrentes de bactérias multirresistente, com impacto de 100 trilhões de dólares na economia global.

Portanto, a intensa pressão seletiva imposta pela administração inconsequente de antimicrobianos, tem selecionado estirpes bacterianas resistentes (Wright, 2010). Sendo assim, o surgimento e disseminação de estirpes resistentes tem importância para saúde pública, pois gera ineficiência dos tratamentos implementados na medicina humana, além de elevar as taxas de mortalidade (Cohen e Tauxe, 1986). Com isso, destaca-se a necessidade na adoção de políticas governamentais de utilização consciente de antimicrobianos (WHO, 2012; Antunes et al., 2016).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Pesquisar a presença e realizar caracterização do perfil de resistência à antimicrobianos de estirpes de *Salmonella* spp. isoladas de amostras de fezes cecais, de aves produtoras de ovos de mesa, de estabelecimentos avícolas localizados na região centro-oeste do estado de São Paulo.

#### **3.2 Específicos**

- Colher amostras de fezes provenientes de aves para postura comercial e realização de isolamento e identificação de estirpes de *Salmonella* spp., por meio de análise microbiológica.

- Avaliar sensibilidade aos antimicrobianos utilizados em medicina veterinária e humana dos sorovares isolados.

### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1 Colheita de amostras**

As amostras foram obtidas de 151 granjas de aves produtoras de ovos de mesa, localizadas em 11 municípios da região centro-oeste do estado de São Paulo, entre os anos de 2016 e 2017, totalizando 2.008 amostras. Foram colhidas 300 gramas de fezes cecais por galpão, acondicionados em recipientes estéreis e mantidos sob refrigeração (4 a 8 °C), até realização das análises laboratoriais, conforme descrito na IN nº 8, de 17 de fevereiro de 2017 (Brasil, 2017b). Todos os

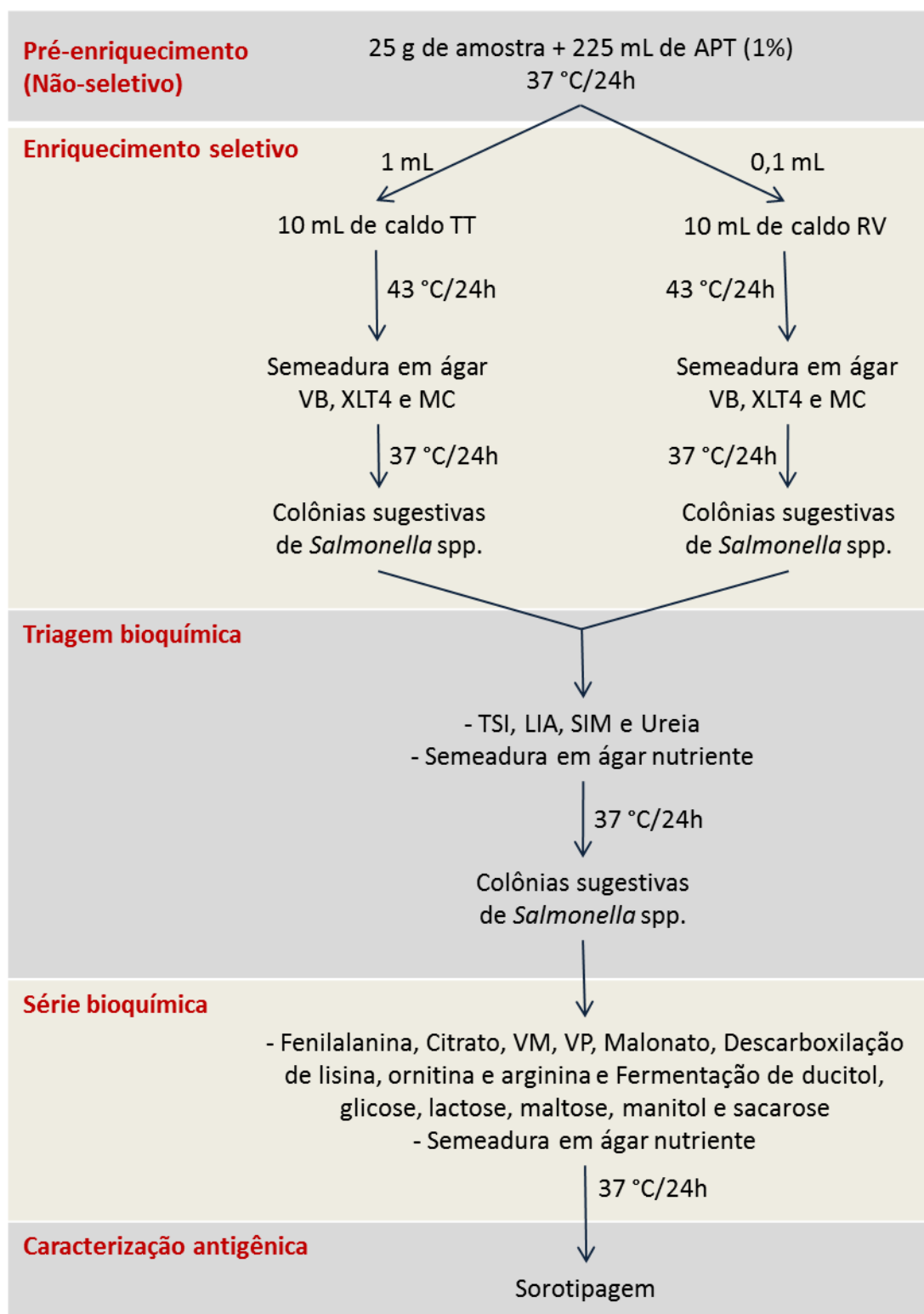
procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCAV/Unesp campus de Jaboticabal-SP, processo nº 07058/19.

#### **4.2 Isolamento e identificação de *Salmonella* spp.**

As análises de isolamento e identificação de *Salmonella* spp. foram realizados no Laboratório de Ornitopatologia, Departamento de Patologia Veterinária, FCAV/Unesp campus de Jaboticabal-SP. A metodologia adotada foi realizada conforme recomendações oficiais do MAPA, descrito na Portaria SDA nº 126, de 03 de novembro de 1995, com adaptações (Brasil, 1995) (Figura 1).

As amostras foram submetidas ao pré-enriquecimento, adicionando-se 25 gramas de fezes em 225 mL de água peptonada a 1 % (AP) (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM0509). Após incubação a 37 °C por 24 horas, transferiu-se 1 mL e 0,1 mL de cada amostra para tubos de ensaio contendo, respectivamente caldo Tetracionato-Novobiocina (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM0671) e caldo Rappaport-Vassiliadis-Novobiocina (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM866), respectivamente, com posterior incubação a 37 °C por 24 horas. A seguir, com auxílio de alça bacteriológica, a amostra foi estriada em meios sólidos seletivos, dispostos em placas de Petri contendo ágar de MacConkey (MC) (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM0115), ágar Verde Brilhante (VB) (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM0263) e ágar Xilose-Lisina-Tergitol4 (XLT4) (DIFCO™, São Paulo, SP - 223420).

Após incubação à 37 °C por 24 horas, as colônias com características sugestivas para o gênero *Salmonella*, foram semeadas em tubos de ensaio contendo meios bioquímicos de diagnóstico presuntivo: ágar Tríplice-Açúcar-Ferro (TSI) (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM0277), ágar Lisina Ferro (LIA) (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM0381), meio SIM (Oxoid® Basingstoke, Hampshire, UK - CM0435) e caldo ureia (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM0071). Os meios foram incubados a 37 °C por 24 horas.



**Figura 1.** Fluxograma da metodologia de isolamento e identificação de *Salmonella* spp. APT: água peptonada; TT: Tetratonato; RV: Rappaport-Vassiliadis Modificado; VB: Verde Brilhante; XLT-4: Xilose-Lisina-Tergitol4; MC: MacConkey; TSI: Tríplice-Açúcar-Ferro; LIA: Lisina Ferro; SIM: Sulfato/ Indol/Motilidade; VM: Vermelho de Metila; VP: Voges-Proskauer

As amostras provenientes da série bioquímica preliminar e sugestivas para *Salmonella* spp., foram semeadas em ágar nutriente (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM0003) e incubadas a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, foram inoculadas em meios da série bioquímica complementar (ágar citrato de Simmons, ágar fenilalanina, caldo malonato, caldos para descarboxilação de lisina, ornitina e arginina, caldos para fermentação de dulcitol, glicose, lactose, maltose, manitol e sacarose e caldos para prova de vermelho de metila e Voges-Proskauer). As estirpes que apresentaram o perfil bioquímico para gênero *Salmonella* foram semeadas novamente em ágar de Lisogenia (LB) (DIFCO™ São Paulo, Brasil - 240110) e incubadas a 37 °C por 24 horas. Em seguida, com o auxílio de uma alça estéril, misturou-se uma colônia proveniente do ágar LB em 30 µL de solução salina a 2 % e posteriormente, adicionou-se 30 µL de antissoro (somático e flagelar), para observação da presença ou não de aglutinação.

#### 4.3 Identificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) do gênero *Salmonella*

As estirpes sugestivas para *Salmonella* spp. pela caracterização microbiológica, foram submetidas a análise de PCR convencional, para confirmação do gênero. O produto esperado era de 796 pb, correspondente ao gene *invA* (Tabela 1), seguindo o descrito por Fratamico e Strobaugh (1998), com modificações.

**Tabela 1.** Iniciadores utilizados na reação de PCR para confirmação do gênero *Salmonella* spp.

Primers	Sequências	Tamanho do produto (pb)	Referência
<i>invA</i> -F	5' - CGGTGGTTTTAAGCGTACTCTT - 3'	796	Fratamico e Strobaugh (1998)
<i>invA</i> -R	5' - CGAATATGCTCCACAAGGTTA - 3'		

A reação consistiu de, tampão 1X de PCR, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de dNTP, 1,25 µM de cada oligonucleotídeo iniciador, 1 UI de Taq DNA polimerase, 2 µL de DNA e água ultra pura para completar o volume final de 20 µL (Invitrogen, EUA). O protocolo de amplificação foi realizado no termociclador MyCycler Thermal Cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) e consistiu de: um ciclo de 94 °C por 2 min; 30

ciclos a 94 °C por 40 seg; 58 °C por 1 min; 72 °C por 1min; um ciclo final de extensão a 72 °C por 7 min. Posteriormente, foi realizado eletroforese em gel de agarose, seguido de visualização do produto amplificado em aparelho fotodocumentador Gel Doc EZ System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

#### **4.4 Tipificação dos sorovares de *Salmonella* spp.**

Após confirmação do gênero pelos testes microbiológico, sorológico e molecular, as estirpes positivas foram encaminhadas ao setor de enterobactérias do Instituto Adolfo Lutz, localizado na cidade de São Paulo, SP, para realização da tipificação dos sorovares. A metodologia adotada seguiu a normativa oficial brasileira, descrita no item 4.2.

#### **4.5 Teste de sensibilidade à antimicrobianos**

Para realização do teste de sensibilidade à antimicrobianos, foram utilizados os método de Kirby-Bauer de difusão em discos (Bauer et al.,1966) e o teste para determinação da concentração inibitória mínima (MIC) (Thamlikitkul e Tiengrim, 2014). A relação de antimicrobianos que foram utilizados no estudo estão descritos na Tabela 2, os quais foram selecionados de acordo com a sua utilização e relevância em medicina veterinária e humana.

##### **4.5.1 Método de difusão em discos**

As estirpes foram submetidas à multiplicação bacteriana em caldo LB (Difco™, São Paulo, Brasil – 240230) à 37 °C por 18 h, sob agitação. Após esse processo, as estirpes foram repicadas em placa de Petri contendo ágar LB e incubadas a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, as colônias foram diluídas em solução salina estéril a 0,85 % e comparadas com o grau 0,5 da escala MacFarland, até diluição correspondente a, aproximadamente,  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL (CLSI, 2017). Em seguida, um suabe estéril foi imerso na suspensão bacteriana, de modo a espalhar uniformemente a amostra em placa de Petri contendo 30 ml de ágar Mueller-Hinton (Sigma-Aldrich®, St. Louis, Missouri, USA - 70191). As placas contendo os discos de

antimicrobianos sobre a suspensão bacteriana foram incubadas à 37 °C por 18 horas (Figura 2).

Os resultados foram analisados conforme a observação da formação de halos de inibição ao redor dos discos de antimicrobianos testados. O diâmetro do halo foi medido com auxílio de uma régua graduada em milímetros e classificado como sensível ou resistente.

**Tabela 2.** Antimicrobianos utilizados para a realização do teste de sensibilidade.

<b>Classes</b>	<b>Antimicrobianos</b>	<b>Concentração (µg/mL)</b>	<b>Fabricante*</b>
Quinolonas e Fluoroquinolonas	Ácido Nalidíxico	30	Sensifar®
	Enrofloxacina	5	Sensifar®
	Norfloxacina	10	Oxoid ®
	Ciprofloxacina	5	Oxoid ®
Fenicóis	Cloranfenicol	30	Sensifar®
Carbapenêmicos	Imipenem	10	Oxoid ®
Monobactâmicos	Aztreonam	30	Sensifar®
Aminoglicosídeos	Canamicina	30	Sensibiodisc®
	Estreptomicina	10	Sensibiodisc®
	Gentamicina	10	Oxoid ®
	Amicacina	30	Oxoid ®
Sulfonamidas	Sulfonamida	300	Sensibiodisc®
	Trimetoprim/Sulfametoxazol	1,25/23,75	Oxoid ®
β-lactâmicos	Cefotaxima	30	Sensifar®
	Cefepime	30	Sensifar®
	Ceftiofur	30	Sensifar®
	Ampicilina	10	Sensibiodisc®
	Amoxicilina	10	Sensifar®
	Amoxicilina/Ácido Clavulânico	20/10	Oxoid ®
Tetraciclinas	Tetraciclina	30	Sensifar®
	Oxitetraciclina	30	Sensi-disc®
Fosfomicinas	Fosfomicina	200	Sensifar®
Polimixinas	Polimixina E	0,125-32	Sigma-Aldrich®

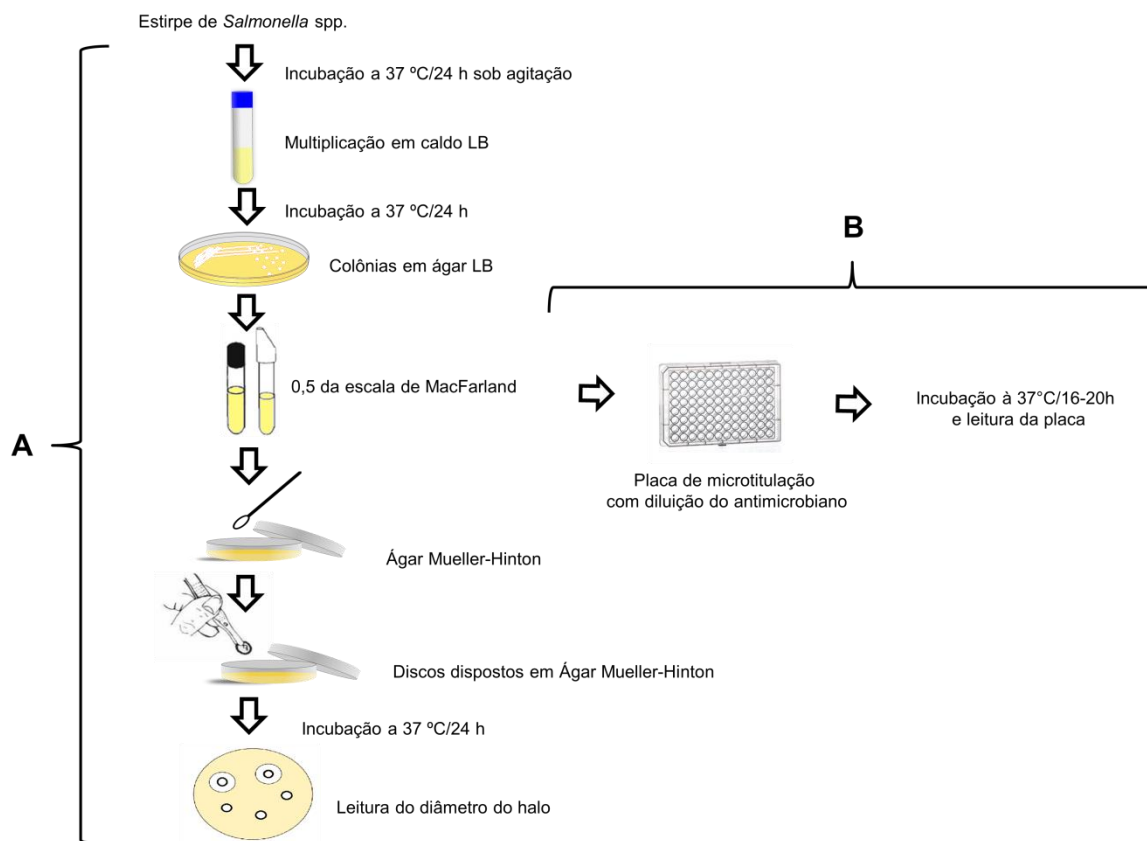
\*Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK; Sigma-Aldrich®, St. Louis, Missouri, USA; Sensi-disc®, Franklin Lakes, Nova Jersey, EUA; Sensibiodisc®, São Paulo, BR; Sensifar®, São Paulo, BR

#### 4.5.2 Método de determinação da concentração inibitória mínima (MIC)

O teste MIC foi realizado por meio de microdiluição em caldo para determinação da sensibilidade das estirpes ao antimicrobiano Polimixina E

(Thamlikitkul e Tiengrim, 2014). Esse método foi adotado devido à baixa capacidade de difusão da molécula de Polimixina E em teste de difusão em disco (CLSI, 2017).

A suspensão bacteriana foi preparada conforme descrito no item 4.5.1. O antimicrobiano foi preparado a partir de sulfato de colistina 100 % (Sigma-Aldrich®, St. Louis, Missouri, USA – PHR1605), no qual foi utilizado água como diluente, de forma a obter a concentração final de 1 mg/mL. Para verificação da MIC, foi adicionado a amostra em caldo Mueller-Hinton (Oxoid®, Basingstoke, Hampshire, UK - CM0405), o qual continha a solução de antimicrobiano, nas concentrações de 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25 e 0,125 µg/mL. Em seguida, foi realizada incubação à 37 °C por 18 horas. Após esse período, foi verificado a presença ou não de multiplicação bacteriana para cada diluição do antimicrobiano.



**Figura 2.** Esquema do teste de sensibilidade à antimicrobianos. **A:** Método de difusão em discos; **B:** Método de determinação da concentração inibitória mínima (MIC). Fonte: Adaptado de Capuano (2012).

### 4.5.3 Análise dos Resultados

Os resultados dos testes de sensibilidade antimicrobiana foram avaliados seguindo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute*, tendo sido classificados em isolados resistentes e sensíveis, em que os intermediários foram caracterizados como resistentes. Como controle de qualidade da reação, foi utilizada a estirpe *Escherichia coli* ATCC 25922, que é considerada sensível aos antimicrobianos avaliados (CLSI, 2013; CLSI, 2017). Os sorovares resistentes a três ou mais antimicrobianos, de classes distintas, foram considerados multirresistentes (Schwarz et al., 2010).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de aves comerciais têm sido associada como fonte de infecção em surtos de salmonelose em seres humanos e, por serem susceptíveis, a pesquisa de *Salmonella* spp. em aves para postura comercial é fundamental para entendimento epidemiológico da infecção, que varia de acordo com a localização da granja, a linhagem da ave, tipo de produção e as tecnologias adotadas (Gama, 2003; Kottwitz et al., 2008). No Brasil, a monitoria das salmonelose em granjas avícolas exige apenas a identificação dos sorovares *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, além da implementação de metodologias de controle e erradicação, como vacinação e abate sanitário. Após a implementação da vacinação nos programas de controle de *S. Enteritidis* por meio da Instrução Normativa nº 78, de 05 de novembro de 2003, foi verificada redução no isolamento desse patógeno na avicultura e da transmissão vertical para pintos de um dia (Brasil, 2003).

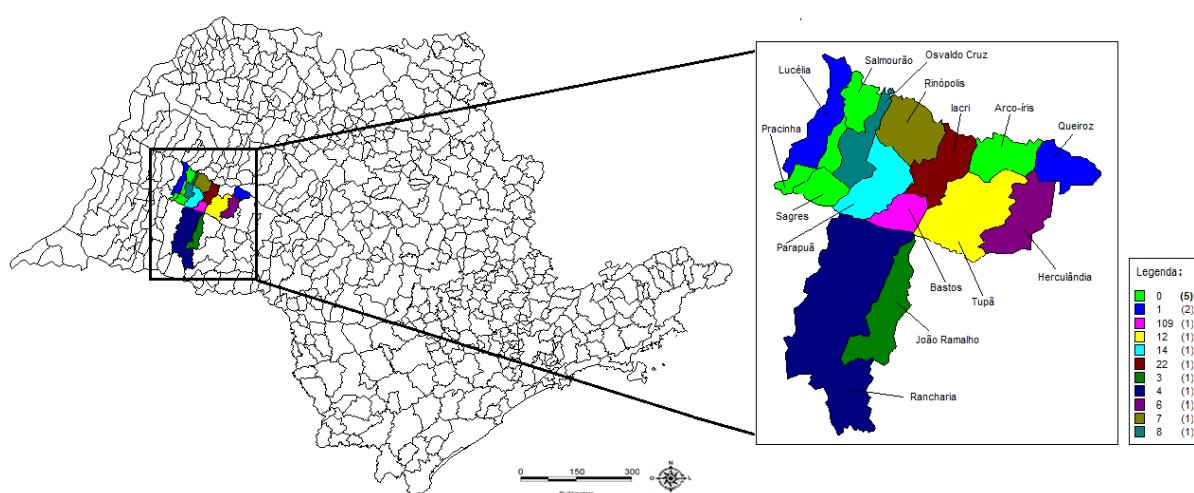
Outros sorovares não são tipificados e são descritos como *Salmonella* spp. em relatórios técnicos (Brasil, 2003; Brasil, 2013). A falta de identificação do patógeno dificulta o entendimento epidemiológico da enfermidade nas aves, o que pode prejudicar a produção de ovos e surtos de EVA em seres humanos (Brasil, 2017b). Além disso, de acordo com a Resolução nº 005, de 05 de Julho de 1991, os padrões microbiológicos em 25g dos ovos integrais líquidos e desidratados devem ter como resultado a ausência de *Salmonella* spp.

Neste estudo, foram colhidas amostras de fezes de aves para postura comercial, provenientes de onze municípios da região centro-oeste do estado de

São Paulo, em que, o município de Bastos foi onde se obteve maior número de isolados (62,5 %), como descrito na Tabela 3. Essa região possui a maior concentração de granjas para postura de ovos de mesa do Brasil, com 187 granjas, onde 58,3 % destas pertencem ao município de Bastos (Figura 3). Além disso, a região destaca-se como maior produtor de ovos de mesa do país (ABPA, 2019).

**Tabela 3.** Distribuição dos municípios em que foram isolados *Salmonella* spp., no período de 2016 a 2017, provenientes de granjas produtoras de ovos de mesa da região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.

Município	Número	%
<b>Bastos</b>	50	62,5
<b>Parapuã</b>	8	10,0
<b>Iacri</b>	7	8,75
<b>Rancharia</b>	3	3,75
<b>Oswaldo Cruz</b>	3	3,75
<b>Rinópolis</b>	3	3,75
<b>Tupã</b>	2	2,50
<b>Lucélia</b>	1	1,25
<b>Herculândia</b>	1	1,25
<b>João Ramalho</b>	1	1,25
<b>Queiroz</b>	1	1,25
<b>Total</b>	80	100



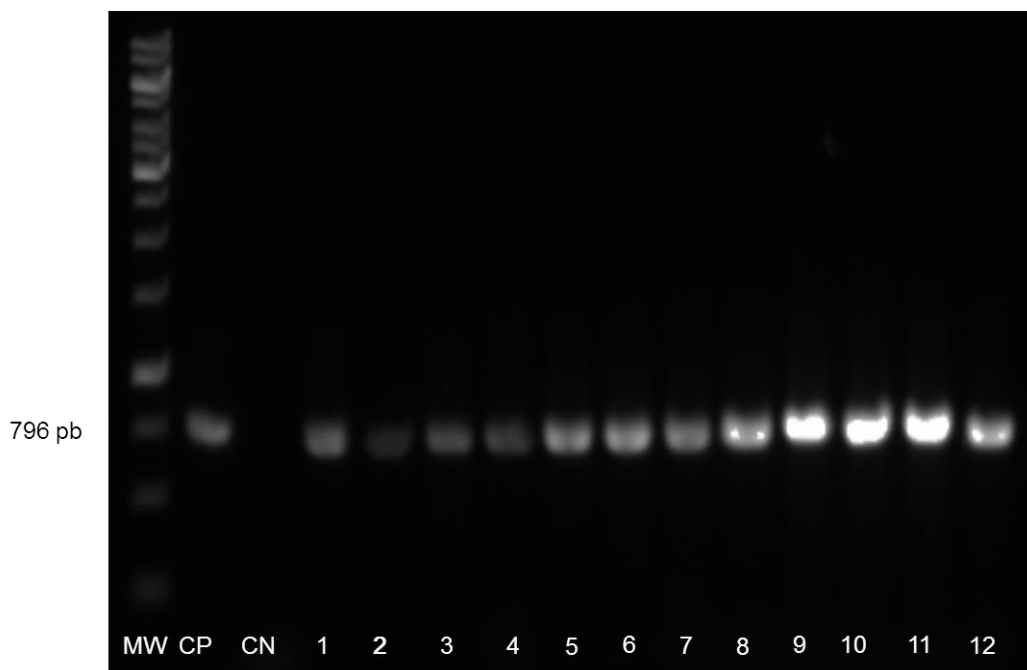
**Figura 3.** Distribuição geográfica de granjas de postura comercial dos municípios pertencentes a maior região produtora de ovos do estado de São Paulo

### 5.1 Isolamento e identificação de sorovares de *Salmonella* spp.

Das 151 granjas avaliadas, foram colhidas 2.008 amostras de fezes, em que 80 granjas (52,9 %) foram positivas para *Salmonella* spp. no exame microbiológico. Para confirmação dos resultados obtidos com o isolamento das amostras, foi realizado análise de PCR (Figura 4). Há relatos da incidência de *Salmonella* spp. em diversas regiões brasileiras, no entanto com resultados inferiores ao obtido neste estudo, o que pode ser atribuído ao maior volume de granjas e aves alojadas nessa região, por favorecer a disseminação do patógeno. Andrade et al. (1995) e Salles et al. (2008) relataram 3,98 % e 6,25 % de amostras positivos, nas cidades de Goiânia-GO e Fortaleza-CE, respectivamente. Já em estudo conduzido em granjas norte-americanas, relataram 27 % de amostras positivas (Ebel et al., 1992).

Dos 80 isolados de *Salmonella* spp. foram identificados 22 sorovares e duas estipes rugosas, as quais não foram submetidas ao teste de sensibilidade, devido a impossibilidade de tipificação. Foi observado maior prevalência para os sorovares *S. Mbandaka* (37,2 %) e *S. Braenderup* (12,8 %) (Tabela 4), seguidos por *S. Senftenberg* e *S. Tennessee* (6,4 %), *S. Saintpaul* (5,1 %), *S. Rissen* (3,8 %), *S. Sandiego*, *S. Javiana*, *S. Meleagridis*, *S. Panama*, *S. I.O7:eh:-* e *S. Cerro* (2,6 %) e, *S. Oranienburg*, *S. Schwarzengrund*, *S. Ouakam*, *S. Muenster*, *S. Livingstone*, *S. Agona*, *S. Yoruba*, *S. Enteritidis*, *S. Minnesota* e *S. Derby*, que foram isoladas em apenas um isolado (1,3 %). No município de Bastos, onde se obteve a maior quantidade de isolados, verificou-se ampla variabilidade de sorovares (18/22), incluindo o sorovar *S. Mbandaka*, que foi o mais prevalente. Entretanto, nos municípios de Rancharia, Lucélia, Herculândia e Tupã esse sorovar não foi isolado (Tabela 5).

A presença simultânea de diferentes sorovares em granjas de postura comercial tem sido relatado em estudos realizados anteriormente, com a ocorrência dos sorovares *S. Agona*, *S. O: 4,5*, *S. Schwarzengrund*, *S. Cerro*, *S. Anatum*, *S. Enteritidis*, *S. Joanesburgo*, *S. Corvallis* (Moraes et al., 2016) *S. subesp. enterica 4,12: r: -*, *S. Mbandaka*, *S. subesp. enterica 6,7: z10: -*, *S. Havana*, *S. Braenderup* (Freitas Neto et al., 2014), *S. Typhimurium* e *S. subesp. enterica 4,12: d: -* (Snow et al., 2007; Chemaly et al., 2009).



**Figura 4.** Identificação do gênero *Salmonella* spp. pela técnica de PCR. **MW:** marcador molecular (1 Kb); **CP:** controle positivo (*S. Enteritidis*); **CN:** controle negativo (adição de água ultra pura); **1 a 12:** isolados sugestivos para *Salmonella* spp.

A prevalência do sorovar *S. Mbandaka* (37,2 %) já era esperada, pois resultados semelhantes foram relatados por outros autores em isolados fecais de galinhas poedeiras no Brasil e Argentina (Kottwitz et al., 2008; Soria et al., 2017). Entretanto, esse percentual é superior ao reportado por Kottwitz et al. (2008) no estado do Paraná, que relataram a ocorrência de *S. Mbandaka* em 11 % dos isolados de fezes de galinhas poedeiras analisadas. Este sorovar é associado à poeira presente na ventilação de granjas para postura, fato que pode contribuir para a circulação e disseminação do patógeno entre as aves, além de dificultar a sua eliminação durante os procedimentos de desinfecção, o que pode inferir na persistência do sorovar nos aviários (Iwabuchi et al., 2010). O sorovar *S. Braenderup*, segundo dentre os isolados (12,8 %), é comumente associado à enfermidades transmitidas por alimentos (EFSA, 2017; CDC, 2019) sendo isolado em produtos avícolas, como ovos (Nor Faiza et al., 2013; Long et al., 2017) e vegetais, como tomate (Micallef et al., 2012) e alface (Gajraj et al., 2012).

**Tabela 4.** Estirpes de *Salmonella* spp. isoladas de amostras de fezes de aves provenientes de granjas produtoras de ovos de mesa, pertencentes a região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.

<b>Sorovar</b>	<b>Isolados</b>	<b>%</b>	<b>Sorovar</b>	<b>Isolados</b>	<b>%</b>
S. Mbandaka	29	37,2	S. Cerro	2	2,6
S. Braenderup	10	12,8	S. Oranienburg	1	1,3
S. Senftenberg	5	6,4	S. Schwarzengrund	1	1,3
S. Tennessee	5	6,4	S. Ouakam	1	1,3
S. Saintpaul	4	5,1	S. Muenster	1	1,3
S. Rissen	3	3,8	S. Livingstone	1	1,3
S. Sandiego	2	2,6	S. Agona	1	1,3
S. Javiana	2	2,6	S. Yoruba	1	1,3
S. Meleagridis	2	2,6	S. Enteritidis	1	1,3
S. Panama	2	2,6	S. Minnesota	1	1,3
S. I.O7:eh:-	2	2,6	S. Derby	1	1,3

S. Seftenberg, o terceiro sorovar mais isolado (6,4 %), foi detectado em surtos de salmoneloses em seres humanos (Tavechio et al., 2002) e na última década foi a principal causa de surtos de EVA na Inglaterra e no País de Gales (Pezzoli et al., 2008). De acordo com Moraes et al. (2016), o sorovar também foi encontrado em amostras mecônio, gaiolas, bebedouros, cloaca, rações e insetos de fazendas de galinhas poedeiras.

A baixa ocorrência de alguns sorovares em lotes de poedeiras, tanto neste estudo, quanto em outros, pode ser atribuído a predileção que possuem a outras fontes de infecção, sejam de origem animal ou vegetal. Como exemplo disso, os sorovares *S. Enteritidis* e *S. Schwarzengrund*, que são frequentemente isolados de frangos de corte e associadas a infecções em seres humanos (Du et al., 2017) e *S. Agona*, que tem sido associada ao consumo de farinha de peixe contaminada, tendo sido associada a introdução desse sorovar no território nacional nas décadas de 70 e 80 (Clark et al. 1973; Berchieri Junior et al., 1985).

**Tabela 5.** Distribuição dos sorovares de *Salmonella* spp. perante os municípios em que foram isolados *Salmonella* spp., no período de 2016 a 2017, provenientes de granjas produtoras de ovos de mesa da região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.

Sorovares	Município											Total
	Bastos	Rancharia	Parapuã	Iacri	Oswaldo cruz	Lucélia	Herculândia	Rinópolis	Tupã	João Ramalho	Queiroz	
S. Oranienburg	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
S. Schwarzengrund	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
S. Ouakam	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
S. Muenster	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
S. Livingstone	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
S. Agona	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
S. Yoruba	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
S. Enteritidis	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
S. Minnesota	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
S. Derby	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
S. Sandiego	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
S. Javiana	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2
S. Meleagridis	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
S. Panama	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
S. I.O7:eh:-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
S. Cerro	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
S. Rissen	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3
S. Saintpaul	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
S. Senftenberg	3	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	5
S. Tennessee	3	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	5
S. Braenderup	6	-	1	1	-	-	-	-	2	-	-	10
S. Mbandaka	15	-	4	4	2	-	-	2	-	1	1	29
Total	49	3	8	7	3	1	1	2	2	1	1	78

Devido à importância das salmoneloses em saúde pública, é essencial identificar o agente decorrente do surto e as suas possíveis fontes de infecção. No Brasil, a identificação de patógenos provenientes de infecções alimentares não é realizada na maior parte dos casos, correspondendo a 58,8 %. No entanto, quando é realizado, *Salmonella* spp. é o principal agente isolado (SVS, 2015). Os sorovares mais comumente notificados nos EUA, União Européia e Brasil são *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* (SVS 2015; EU, 2017; EFSA 2017; CDC, 2019), principalmente em decorrência do consumo de produtos de origem avícola (Lapuz et al., 2012; Jackson et al., 2013). Entretanto, neste estudo apenas um isolado (1,3 %) foi positiva para *S. Enteritidis* e nenhuma para *S. Typhimurium*, resultado que infere que os ovos destinados ao consumo podem estar sendo associados a esse tipo de ocorrência, sem que estejam efetivamente contaminados por estes sorovares. O que também pode estar associado a adoção de medidas de controle e prevenção impostas pelo MAPA (Brasil, 2003).

Por ser classificado como importante país exportador de produtos de origem animal e vegetal, a garantia da qualidade da produção de alimentos brasileiros se adequam conforme normativas sanitárias recomendadas pela “World Organization for Animal Health” (OIE). A adoção dessas medidas agregam confiabilidade aos países importadores de produtos brasileiros e minimizam a ocorrência de embargos comerciais, pois não toleram a presença de patógenos e resíduos antimicrobianos, sendo as bactérias do gênero *Salmonella* o principal alvo dessas monitorias (Allen et al. 2013; ABPA, 2019; OIE, 2019).

## **5.2 Sensibilidade a antimicrobianos dos isolados de *Salmonella* spp.**

Com o intuito de minimizar a ocorrência de enfermidades bacterianas, os antimicrobianos possuem reconhecido destaque na rotina da medicina, tanto na veterinária, quanto na humana. Entretanto, na medicina veterinária, além da sua utilização para tratamento, durante muitos anos foram utilizados como profilático e como melhoradores de desempenho (Antunes et al., 2016). Dentre as classes mais utilizadas, incluem a dos  $\beta$ -lactâmicos, tetraciclina, aminoglicosídeos, anfenicóis, quinolonas, fluoroquinolonas e sulfonamidas (Moreno-Bondi et al. 2009).

Com a realização dos testes de sensibilidade para os isolados deste estudo, obteve-se que 100 % dos isolados testados foram resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos testados, em que a estreptomicina foi a de maior ocorrência (Tabela 6). Em semelhança, estudos realizados na última década verificaram 100 % de isolados de *Salmonella* spp. provenientes de amostras avícolas resistentes, com destaque para a fosfomicina e as cefalosporinas (Kasimoglu Dogru et al., 2010; Rehman et al., 2017; Campos et al., 2018).

Neste estudo, as estirpes de *Salmonella* spp. apresentaram maior resistência à estreptomicina (93,5 %), sulfonamida (84,6 %) e ciprofloxacina (41 %), seguidos pelo ácido nalidíxico e enrofloxacin (20,5 %), tetraciclina e oxitetraciclina (17,9 %), sulfametoxazol/trimetoprima (14,1 %) e ampicilina, amoxicilina e amoxicilina/ácido clavulânico (9 %). Os antimicrobianos norfloxacin, amicacina, gentamicina, aztreonam, cefotaxima, ceftiofur, cefepime, imipenem, cloranfenicol e fosfomicina foram caracterizados como sensíveis para os isolados testados, os quais devem ser utilizados com cautela, a fim de não induzir microrganismos resistentes a esses patógenos.

A análise de MIC para polimixina E, teve variação de 0,5 e 4 µg/mL para os isolados testados, que de acordo com o descrito por CLSI (2017), apenas dois isolados foram considerados resistentes, ao considerar 2 µg/mL como ponto de corte (Tabela 7). Mesmo que a maioria das estirpes caracterizaram-se como sensíveis para esse antimicrobiano, vale ressaltar que a sua utilização deve ser restrita e consciente, que embora tenha sido suspensa na década de 1970, por conta da sua toxicidade, com o aparecimento de bactérias multirresistentes a outras classes de antimicrobianos, seu uso foi liberado novamente na década de 1990 (Storm et al., 1977; Poirel et al., 2017) e, no ano de 2016, foi proibida para a utilização como melhorador de desempenho, devido ao risco de resistência com a utilização do sulfato de colistina (Brasil, 2016).

**Tabela 6.** Sensibilidade dos isolados de *Salmonella* spp. à antimicrobianos, isoladas no período de 2016 à 2017, provenientes de granjas produtoras de ovos de mesa da região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.

Serovares	Número de sorovares resistentes à antimicrobianos																					
	NAL	CIP	ENO	NOR	AMC	AMP	AMO	AMI	GEN	EST	KAN	ATM	CTX	CTF	CPM	IPM	SUL	SXT	CLO	TET	OXI	FOS
S. Mbandaka	4	11	4	-	4	4	4	-	-	28	-	-	-	-	-	-	26	8	-	8	8	-
S. Braenderup	4	6	4	-	-	-	-	-	-	9	1	-	-	-	-	-	9	1	-	1	1	-
S. Senftenberg	3	4	3	-	-	2	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	5	1	-	2	2	-
S. Tennessee	-	2	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-
S. Saintpaul	1	1	1	-	2	-	2	-	-	4	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	2	-
S. Rissen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-
S. Sandiego	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
S. Javiana	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
S. Meleagridis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. Panama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
S. I.O7:eh:-	2	2	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. Cerro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
S. Oranienburg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S.Schwarzengrund	-	1	1	-	1	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	-
S. Ouakam	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
S. Muenster	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
S. Livingstone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
S. Agona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
S. Yoruba	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
S. Enteritidis	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
S. Minnesota	1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
S. Derby	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>32</b>	<b>16</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>73</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>66</b>	<b>11</b>	<b>0</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>0</b>

-: Negativo; NAL: Ácido Nalidíxico; CIP: Ciprofloxacina; ENO: Enrofloxacina; NOR: Norfloxacina; AMC: Amoxicilina/Ácido clavulânico; AMP: Ampicilina; AMO: Amoxicilina; AMI: Amicacina; GEN: Gentamicina; EST: Estreptomicina; KAN: Canamicina; ATM: Aztreonam; CTX: Cefotaxima; CTF: Ceftiofur; CPM: Cefepime; IPM: Imipenem; SUL: Sulfanamida; SXT: Trimetoprim/Sulfametoxazol; CLO: Cloranfenicol; TET: Tetraciclina; OXI: Oxitetraciclina; FOS: Fosfomicina

**Tabela 7.** Concentração inibitória mínima de Polimixina E para os sorovares de *Salmonella* spp. isolados.

<b>Sorovares</b>	<b>MIC (µg/mL)</b>
S. Mbandaka	0,5(2); 1(18); 2(8); 4(1)
S. Braenderup	0,5(1); 1(7); 2(2)
S. Senftenberg	1(3); 2(2)
S. Tennessee	1(4); 2(1)
S. Saintpaul	1(2); 2(2)
S. Rissen	1(3)
S. Sandiego	1(1); 4(1)
S. Javiana	1(2)
S. Meleagridis	1(2)
S. Panama	1(2)
S. I.O7:eh:-	1(1); 2(1)
S. Cerro	1(2)
S. Oranienburg	2(1)
S. Schwarzengrund	1(1)
S. Ouakam	1(1)
S. Muenster	1(1)
S. Livingstone	1(1)
S. Agona	1(1)
S. Yoruba	1(1)
S. Enteritidis	2(1)
S. Minnesota	2(1)
S. Derby	2(1)

Conforme descrito na Tabela 8, foram observados 18 perfis de resistência, sendo dois padrões únicos e 16 múltiplos (dois a 10 antimicrobianos). Dentre os 78 isolados avaliados, 10 apresentaram perfil único de resistência para os antimicrobianos sulfanamida (3/78) e estreptomicina (7/78). Padrões de multirresistência (resistente a três ou mais antimicrobianos de classes distintas) foram observados em 32 dos isolados, agrupados em 11 perfis diferentes, em que um dos sorovares de *S. Schwarzengrund* (1) foi caracterizado com o perfil máximo de resistência, tendo sido resistente à 10 antimicrobianos.

A ocorrência de resistência a antimicrobianos tem aumentado com o decorrer dos anos, seja pela frequente utilização nas medicinas humana e veterinária, quanto da adaptação e reorganização genica bacteriana, incluindo bactérias do gênero

*Salmonella* spp. (Chen et al., 2013; Burke et al., 2014; Sapkota et al., 2014; Cosby et al., 2015; Pande et al., 2015; Antunes et al., 2016; Grant et al., 2016). A associação desses fatores favorece o aparecimento de bactérias multirresistentes, as quais são frequentemente relacionadas quando da ocorrência de mortalidade de seres humanos em centros hospitalares ou unidades de tratamento intensivo (Rodríguez et al., 2012; Du et al., 2017).

Antunes et al. (2003) relataram 39 % de sorovares de *Salmonella* resistentes à estreptomicina isolados de produtos avícolas, enquanto que neste estudo caracterizou-se 93,5 % de estirpes resistentes a esse fármaco. Essa ocorrência tem sido atribuída ao uso deste antimicrobiano em doses subterapêuticas na avicultura, o que delimita, a cada ano, a sua eficácia para fins terapêuticos (Manie et al., 1998; Liljebjelke et al., 2017). O segundo antimicrobiano com maior ocorrência de resistência pertence à classe das sulfonamidas (84,6 %). Entretanto, quando em associação ao trimetoprim, o percentual de resistência mostrou-se significativamente inferior, com apenas 14,1 %. Assim como descrito por Castagna et al. (2001); Galdino et al. (2013), que ao pesquisarem a sensibilidade de isolados de *Salmonella* spp. de suínos e frangos de corte, também verificaram maior eficácia da associação de sulfonamida com trimetoprim. Embora a combinação tenha se mostrado mais efetiva, é muito utilizada para o tratamento de infecções em seres humanos, em que relata-se aumento anual de 30 % de estirpes de *Salmonella* spp. resistentes ao composto (Barlow et al. 2014; Tagg et al., 2018).

O surgimento de isolados resistentes à ampicilina e sulfametoxazol/trimetoprim tem aumentado ao longo dos anos, promovendo a utilização de antimicrobianos de amplo espectro, como ciprofloxacinas e cefalosporinas, que são comumente empregados no tratamento das salmoneloses em seres humanos (Chen et al., 2013; Antunes et al., 2016). Além disso, após a liberação das fluoroquinolonas na produção animal, isolaram-se estirpes de *Salmonella* spp. resistentes à ciprofloxacina em produtos de origem animal e em seres humanos (Cosby et al., 2015). Embora tenha sido baixo o percentual de estirpes resistentes à ciprofloxacina neste estudo, Costa et al. (2013); Shang et al. (2018), relataram que o surgimento de estirpes resistentes a essa classe é

preocupante, uma vez que esses medicamentos são usados para tratar casos graves de infecções bacterianas na medicina humana.

Além disso, a ocorrência de estirpes resistentes em seres humanos também pode estar relacionadas à fontes alimentares com resíduos antimicrobianos. Em relatório publicado pelo MAPA, referente ao ano de 2017, foram descritos os resultados obtidos para não conformidades em amostras de produtos de origem animal, monitoramento realizado pelo Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC/Animal). Dentre as amostras de produtos de origem avícola, foram descritos 1,21 % (12/3.894) de não conformidades, das quais 1,03 % (6/584) eram de ovos e 0,18 % (6/3.310) de aves de corte. Ao discriminar as substâncias encontradas, verificou-se a presença de enrofloxacina (1,81 %), sulfaquinoxalina (0,17 %), sulfametazina (0,36 %), doxiciclina (0,08 %), nicarbazina (0,85 %) e arsênio (0,51 %). Tal relato evidencia a preocupação que se tem decorrente da ingestão desse tipo de produto, pois apenas uma das substâncias encontradas não era proveniente de antimicrobianos, além de que, foi relatado a presença de dois compostos caracterizados como resistentes neste estudo, sulfonamida (84,6 %) e enrofloxacina (20,5 %), o que pode contribuir com o aumento do surgimento de bactérias resistentes e multirresistentes (Brasil, 2018).

A intensa pressão seletiva imposta pela administração indiscriminada de antimicrobianos tem selecionado estirpes bacterianas resistentes a esses compostos (Wright, 2010). O surgimento e disseminação de estirpes de *Salmonella* spp. resistentes veiculadas pela ingestão de alimentos de origem animal, tem importante implicação para a saúde pública, o que gera ineficiência no seu tratamento e aumento das taxas de mortalidade em seres humanos (Costa et al., 2013; Shang et al., 2018). Além disso, a antibioticoterapia tem se mostrado ineficaz para o tratamento de aves infectadas por *Salmonella* spp. (Celis-Estupiñan et al., 2016). Portanto, torna-se necessário a promoção de políticas de uso racional de antimicrobianos, implementação efetiva de medidas de biossegurança e a tipificação de *Salmonella* spp. em granjas avícolas, para fornecer conhecimento epidemiológico para o desenvolvimento de medidas de prevenção e controle do patógeno, a fim de garantir a saúde animal e a certificação de qualidade do produto final (WHO, 2012; Antunes et al., 2016).

**Tabela 8.** Perfis de resistência de estirpes de *Salmonella* spp. à antimicrobianos, isolados no período de 2016 à 2017, provenientes de granjas produtoras de ovos de mesa da região centro-oeste do estado de São Paulo, SP, Brasil.

Perfil	N° de estirpes	Sorovar (N° de estirpes)
SUL	3	S. Rissen (1), S. Braenderup (1), S. Mbandaka (1)
EST	7	S. Oranienburg (1), S. Mbandaka (2), S. Saintpaul (1), S. Tennessee (1), S. Meleaeridis (2)
SUL/EST	31	S. Cerro (2), S. Braenderup (2), S. Mbandaka (12), S. Saintpaul (1), S. Panama (2), S. Tennessee (2), S. Senftenberg (1), S. San Diego (1), S. Yoruba (1), S. Javiana (2), S. Rissen (2), S. Agona (1), S. Livingstone (1), S. Ouakam (1)
SUL/EST/CIP*	13	S. Tennessee (2), S. Mbandaka (5), S. Braenderup (2), S. Derby (1), S. Senftenberg (1), S. San Diego (1), S. Muenster (1)
SUL/NAL/CIP	1	S. Enteritidis (1)
NAL/ENO/CIP	1	S. I. O7:eh:- (1)
NAL/ENO/EST/CIP	2	S. Mbandaka (1), S. I. O7:eh:- (1)
SUL/NAL/ENO/EST/CIP*	5	S. Braenderup (3), S. Senftenberg (1), S. Minnesota (1)
KAN/NAL/ENO/EST/CIP	1	S. Braenderup (1)
SUL/SXT/TET/OXI/EST*	1	S. Braenderup (1)
SUL/SXT/TET/OXI/EST/CIP*	1	S. Mbandaka (1)
SUL/NAL/TET/OXI/ENO/EST/CIP*	1	S. Senftenberg (1)
SUL/AMC/AMO/AMP/TET/OXI/EST*	1	S. Saintpaul (1)
SUL/SXT/NAL/TET/OXI/ENO/EST/CIP*	4	S. Senftenberg (1), S. Mbandaka (3)
SUL/SXT/AMC/AMO/AMP/TET/OXI/EST*	2	S. Mbandaka (2)
AMC/AMO/AMP/NAL/TET/OXI/ENO/EST/CIP*	1	S. Saintpaul (1)
SUL/SXT/AMC/AMO/AMP/TET/OXI/EST/CIP*	2	S. Mbandaka (2)
SUL/SXT/AMC/AMO/AMP/TET/OXI/ENO/EST/CIP*	1	S. Schwarzengrund (1)

\* Sorovares resistentes a três ou mais antimicrobianos de classes distintas foram categorizados como multirresistentes (Schwarz et al., 2010)

NAL: Ácido Nalidíxico; ENO: Enrofloxacina; AMC: Amoxicilina/Ácido clavulânico; AMP: Ampicilina; AMO: Amoxicilina; EST: Estreptomicina; SUL: Sulfanamida; SXT: Trimetoprim/Sulfametoxazol; TET: Tetraciclina; OXI: Oxitetraclina; KAN: Canamicina

## 6 CONCLUSÃO

Neste estudo, 52,9 % (80/151) das granjas foram positivas para *Salmonella* spp. e houve ampla variabilidade dentre os isolados, com 22 sorovares, em que 100 % das estirpes foram resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos testados, com 41 % de multirresistência. Os resultados obtidos demonstraram a situação do setor de postura, de uma importante região produtora de ovos do país, quanto a presença de *Salmonella* spp. e sensibilidade dos isolados aos antimicrobianos testados, proporcionando o desenvolvimento de medidas de prevenção e controle, a fim de evitar o comprometimento da comercialização do produto final e contribuir na diminuição de resistência antimicrobiana.

## REFERÊNCIAS

- ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal (2018) **Relatório Anual 2018**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>>. Acesso em: 5 out. 2018.
- ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal (2019) **Relatório Anual 2019**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2019.
- Alekshun MN, Levy SB (2007) Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. **Cell** 128:1037-1050.
- Allen HK, Levine UY, Looft T, Bandrick M, Casey TA (2013) Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. **Trends in Microbiology** 21:114-119.
- Alterthum F (2008) Mecanismo de ação dos antibacterianos e mecanismos de resistência. In: Trabulsi LR, Alterthum F (Eds.) **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, p. 79-85.
- Andino A, Hanning I (2015) *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. **Scientific World Journal** 2015:1-16.
- Andrade MA, Mesquita AJ, Souza AM, Batista MAC (1995) Frequência de *Salmonella* em granjas de postura comercial localizadas no município de Goiás e entorno. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 25:21-26.
- Antunes P, Mourão J, Campos J, Peixe L (2016) *Salmonellosis*: the role of poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection** 22:110-121.

Antunes P, Réu C, Sousa JC, Peixe L, Pestana N (2003) Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. **International Journal of Food Microbiology** 82:97-103.

Baptista MGF (2013) **Mecanismos de resistência aos antibióticos**. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa.

Barletta F, Mercado EH, Luque A, Ruiz J, Cleary TG, Ochoa, TJ (2013) Multiplex real-time PCR for detection of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Shigella*. **Journal of Clinical Microbiology** 51:2822-2829.

Barlow RS, Debess EE, Winthrop KL, Lapidus JA, Vega R, Cieslak PR (2014) Travel-associated antimicrobial drug-resistant nontyphoidal *Salmonella*, 2004-2009. **Emerging Infectious Diseases** 20: 603-11

Barnhart HM, Dreesen DW, Bastien R, Pancorbo OC (1991) Prevalence of *Salmonella* Enteritidis and other serovars in ovaries of layer hens at time of slaughter. **Journal of Food Protection** 54:488-491.

Bauer AW, Kirby E, Sherris EM, Turk M (1966) Antibiotic by standardized single disk method. Amer. **Journal of Clinical Pathology** 45:493-496.

Berchieri Junior A, Freitas Neto OC (2009) Salmoneloses aviárias. In: Berchieri Júnior A, Silva EM, Di Fábio J, Sesti L, Zuanaze MAF (Eds.) **Doenças das aves**. Campinas: Facta, p. 435-454.

Berchieri Junior A, Paulillo AC, Fernandes AS, Irino K, Pessoa GVA (1985) Sensibilidade a antimicrobianos por *Salmonella* isolados de farinhas de origem animal utilizados no preparo de rações. **Revista de Microbiologia** 16:56-60.

Berchieri Junior A, Penha Filho RC (2016) **Os conhecimentos atuais sobre o Paratifo Aviário no Brasil**. Campinas: AviSite, p. 7-9. Encarte Especial.

Berndt A, Wilhelm A, Jugert C, Pieper J, Sachse K, Methner V (2007) Chicken cecum immune response to *Salmonella* enterica serovars of different levels of invasiveness. **Infection and Immunity** 75:5993-6007.

Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV (2015) Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature** 13:42-51.

Bolon MK (2011) The newer fluoroquinolones. **Medical Clinics of North America** 95:793- 817.

Bouallégue-Godet O, Salem YB, Fabre L, Demartin M, Grimont PAD, Mzoughi R, Weill FX (2005) Nosocomial outbreak caused by *Salmonella* enterica serotype livingstone producing CTX-M-27 extended-spectrum -lactamase in a neonatal unit in Sousse, Tunisia. **Journal of Clinical Microbiology** 43:1037-1044.

Brasil (1991) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Resolução nº 005, de julho de 1991**. Coordenação Geral de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Disponível em: <<https://sidago.agrodefesa.gov.br/site/adicionaispropios/protocolo/arquivos/409894.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2019.

Brasil (1994) **Portaria nº 193, de 19 de setembro de 1994**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 19 set. 1994. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 21 jun. 2019.

Brasil (1995) **Portaria nº 126, de 3 de novembro de 1995**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 6 nov. 1995, seção 1: 17694-17698. <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Accessed 20 Abril 2019.

Brasil (1998) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Ofício Circular nº 47 de 1998**. Dispõe sobre a proibição do uso de ovoparcina com a finalidade de aditivo alimentar na criação animal. Brasília-DF: Diário Oficial da União.

Brasil (2003) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 78, de 3 de novembro de 2003**. Brasília-DF. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3864>>. Acesso em: 21 jun. 2019.

Brasil (2007) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Lei nº 6.198, de dezembro de 1974**. Decreto 6.296/2007. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 21 jun. 2019.

Brasil (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 26, de 09 de julho de 2009**. Aprova o regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. Diário Oficial da União de 10 de julho de 2009, seção 1, p. 14.

Brasil (2012) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 14, de 17 de maio de 2012**. Seção 1. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 21 jun. 2019.

Brasil (2013) **Instrução Normativa nº 10, de 11 de abril de 2013**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 12 abr. 2013, seção 1, p. 2-4. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=2&data=12/04/2013>>. Acesso em: 20 abr. 2019.

Brasil (2016) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016**. Seção 1, p. 6. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 21 jun. 2019.

Brasil (2017a) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 41, de 23 de outubro de 2017**. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 21 jun. 2019.

Brasil (2017b) **Instrução Normativa nº 8, de 17 de fevereiro de 2017**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 3 de março 2017, seção 1:32-33. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=03/03/2017&jornal=1&pagina=32&totalArquivos=132>>. Acesso em: 20 abr. 2019.

Brasil (2018) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário dos Programas de Controle de Alimentos de Origem Animal do DIPOA**. Brasília, DF: Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Coordenação Geral de Programas Especiais. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos-publicacoes-dipoa/anuario-dipoa-v4>>. Acesso em: 20 maio 2019.

Burke L, Hopkins KL, Meunier D, Pinna E, Fitzgerald-Hughes D, Humphreys Woodford N (2014) Resistance to third-generation cephalosporins in human non-typhoidal *Salmonella enterica* isolates from England and Wales, 2010-12. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 69:977-981.

Campos J, Mourão J, Silveira L, Saraiva M, Correia CB, Maças AP, Peixe L, Antunes P (2018) Imported poultry meat as a source of extended-spectrum cephalosporin-resistant CMY-2-producing *Salmonella* Heidelberg and *Salmonella* Minnesota in the European Union, 2014-2015. **International Journal of Antimicrobial Agents** 51:151-154.

Capuano, V. S. C. **Estudo comparativo de métodos fenotípicos e biomoleculares para determinação de resistência a antibióticos em cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carcaças de bovinos e produtos cárneos**. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Carattoli A (2001) Importance of integrons in the diffusion of resistance. **Veterinary Research** 32:243-59.

Carattoli A (2003) Plasmid-mediated antimicrobial resistance in *Salmonella enterica*. **Current Issues in Molecular Biology** 5:113-22.

Cason JA, Cox NA, Bailey JS (1994) Transmission of *Salmonella Typhimurium* during hatching of broiler chicks. **Avian Diseases** 38:583-588.

Castagna SMF, Bessa MC, Carvalho DA, Cardoso M, Costa, M. (2001) Resistência a antimicrobianos de amostras de *Salmonella* spp. Isoladas de suínos abatidos no estado do rio grande do sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária – UFRGS** 29:44-49.

Castanon JIR (2007) History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. **Poultry Science** 86:2466-2471.

Castellan DM, Kinde H, Kass PH, Cutler G, Breitmeyer RE, Bell DD, Ernst RA, Kerr DC, Little HE, Willoughby D, Riemann HP, Ardans A, Snowdon JA, Kuney DR (2004) Descriptive study of California egg layer premises and analysis of risk factors for *Salmonella* enterica serotype enteritidis as characterized by drag swabs. **Avian Diseases** 48:550-561.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention (2018) **Multistate outbreak of *Salmonella* Mbandaka infections linked to Kellogg’s honey smacks cereal.** Georgia, US Department of Health and Human Services. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/Salmonella/mbandaka-06-18/index.html>>. Acesso em: 20 de jun. 2019.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention (2019) **Reports of *Salmonella* outbreak investigations from 2019.** Georgia, US Department of Health and Human Services. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/Salmonella/outbreaks-2019.html>>. Acesso em: 20 de jun. 2019.

Celis-Estupiñan ALDP, Batista DFA, Cardozo MV, Souza AIS, Rodrigues Alves LB, Almeida AM, Barrow PA, Berchieri Junior A, Freitas Neto OC (2016) Further investigations on the epidemiology of fowl typhoid in Brazil. **Avian Pathology** 46:416-425.

Chemaly M, Huneau-Salaun A, Labbe A, Houdayer C, Petetin I, Fravallo P (2009) Isolation of *Salmonella* enterica in laying-hen flocks and assessment of eggshell contamination in France. **Journal of Food Protection** 72:2071-2077.

Chen HM, Wang Y, Su LH, Chiu CH (2013) Nontyphoid *Salmonella* infection: microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. **Pediatrics and Neonatology** 54:147-152.

Clark GM, Kaufmann AF, Gangarosa EJ, Thompson MA (1973) Epidemiology of an international outbreak of *Salmonella* agona. **The Lancet** 1:490-493.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute (2013) **Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**; approved standard – Fourth. CLSI supplement VET01-A4. Wayne: CLSI.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute (2017) **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.** CLSI supplement M100. Wayne: CLSI.

Cohen M, Tauxe RV (1986) Drug-resistant *Salmonella* in the United States: an epidemiological perspective. **Science** 234:964-969.

Coque TM, Baquero F, Canton R (2008) Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. **Eurosurveillance** 13:19-29.

Cortez ALL, De Carvalho AC, De FB, Ikuno AA, Bürger KP, Vidal AMC (2006) Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves. **Arquivos do Instituto Biológico** 73:157-163.

Cosby DE, Cox NA, Harrison MA, Wilson JL, Jeff Buhr R, Fedorka –Cray PJ (2015) *Salmonella* and antimicrobial resistance in broilers: a review. **The Journal of Applied Poultry Research** 24:408-426.

Cosentino S, Podda GS, Corda A, Fadda ME, Deplano M, Pisano MB (2010) Molecular detection of virulence factors and antibiotic resistance pattern in clinical Enterococcus faecalis strains in Sardinia. **Journal of Preventive Medicine and Hygiene** 51:31-36.

Costa RG, Festivo ML, Araujo MS, Reis EM, Lázaro NS, Rodrigues DP (2013) Antimicrobial susceptibility and serovars of *Salmonella* circulating in commercial poultry carcasses and poultry products in Brazil. **Journal of Food Protection** 76:2011-2017.

Cruz AR, Paes AC, Siqueira AK (2012) Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas isoladas de cães frente a antimicrobianos. **Veterinária e Zootecnia** 19:601-610.

Diaz-Sanchez S, D'Souza D, Biswas D, Hanning I (2015) Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. **Poultry Science** 94:1419-1430.

Dijkshoorn L, Nemeč A, Seifert H (2007) An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Nature Reviews Microbiology** 5:939-951.

Kasimoglu Dogru A, Ayaz ND, Gencay YE (2010) Serotype identification and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* spp. isolated from chicken carcasses. **Trop Anim Health Prod.** 42:893-897.

Donato DCZ, Gandra ERS, Garcia PDSR, Reis CBM, Gameiro AH (2009) A questão da qualidade no sistema agroindustrial do ovo. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, **Anais...** Porto Alegre: SOBER, p. 1-13.

Du X, Jiang X, Ye Y, Guo B, Wang W, Ding J, Xie G (2017) Next Generation Sequencing for the investigation of an Outbreak of *Salmonella* Schwarzengrund in Nanjing, China. **International Journal of Biological Macromolecules** 107:393-396.

Dzidic S, Suskovic J, Kos B (2008) Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. **Food Technology and Biotechnology** 46:11-21.

Ebel ED, David MJ, Mason J (1992) Occurrence of *Salmonella* Enteritidis in the US commercial egg industry. Report on a national spent hen survey. **Avian Diseases** 36:646-654.

Ebling PD, Rossmann EG (2016) Contaminação por *Salmonella* spp. através do chiller – uma revisão. **Revista Ciências Agroveterinárias e Alimentos** 1:118-130.

EFSA – European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (2017) The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. **EFSA Journal** 15:5077.

EU – European Union. RASF (2016) The rapid alert system for food and feed: 2015 annual report. European Commission. **Health and Food Safety** 2016:1-64.

EU – European Union. RASF (2017) The rapid alert system for food and feed: 2016 annual report. European Commission. **Health and Food Safety** 2017:1-58.

EU – European Union. RASF (2018) The rapid alert system for food and feed: 2017 annual report. European Commission. **Health and Food Safety** 2018:1-60.

Fàbrega A, Vila J (2013) *Salmonella* enterica serovar Typhimurium skills to succeed in the host: virulence and regulation. **Clinical Microbiology Reviews** 26:308-341.

Falagas ME, Kasiakou SK (2006) Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. **Critical Care** 10:27-40.

Ferreira JC, Penha Filho RAC, Andrade LN, Berchieri Júnior A, Darini ALC (2016) Evaluation and characterization of plasmids carrying CTX-M genes in a non-clonal population of multidrug-resistant Enterobacteriaceae isolated from poultry in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease** 85:444-448.

Fluit AC, Schmitz FJ (2004) Resistance integrons and super-integrons. **Clinical Microbiology and Infection** 10:272-288.

Fluit AC (2005) Towards more virulent and antibiotic-resistant *Salmonella*? **Medical Microbiology and Immunology** 43:1-11.

Fratamico PM, Strobaugh TP (1998) Simultaneous detection of *Salmonella* spp and *Escherichia coli* O157:H7 by multiplex PCR. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology** 21:92-98.

Freitas Neto OC, Penha Filho RAC, Barrow P, Berchieri Junior A (2010) Sources of human non-typhoid *Salmonellosis*: a review. **Brazilian Journal of Poultry Science** 12:1-11.

Freitas Neto OC, Galdino VMCA, Campello PL, Almeida AM, Fernandes SA, Berchieri Junior A (2014) *Salmonella* serovars in laying hen flocks and commercial table eggs from a region of São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola** 16:57-62.

Gajraj R, Pooransingh S, Hawker JI, Olowokure B (2012) Multiple outbreaks of *Salmonella* braenderup associated with consumption of iceberg lettuce. **International Journal of Environmental Health Research** 22:150-155.

Galdino VMC, Melo RT, Oliveira RP, Mendonça EP, Nalevaiko PC, Rossi DA (2013) Virulence of *Salmonella* spp. of poultry products origin and antimicrobial resistance. **Bioscience Journal** 29:932-939.

Gama NMSQ, Berchieri Junior A, Fernandes SA (2003) Occurrence of *Salmonella* spp in laying hens. **Brazilian Journal of Poultry Science** 5:15-21.

Gast RK, Holt PS (1998) Persistence of *Salmonella* enteritidis from one day of age until maturity in experimentally infected layer chickens. **Poultry Science** 77:1759-1762.

Goldstein C, Lee MD, Sanchez S, Hudson C, Phillips B, Register B, Grady M, Liebert C, Summers NO, White DG, Maurer JJ (2001) Incidence of class 1 and class 2 integrases in clinical and commensal bacteria from livestock, companion animals, and exotics. **Antimicrob Agents Chemother** 45:723-726.

Grant A, Hashem F, Parveen S (2016) *Salmonella* and *Campylobacter*: antimicrobial resistance and bacteriophage control in poultry. **Food Microbiology** 53:104-109.

Grimont PAD, Grimont F, Bouvet P (2000) Taxonomy of the genus *Salmonella*. In: Wray C, Wray A (Eds.) *Salmonella* in domestic animals. Oxon: CABI Publishing, p. 1-17.

Grimont PAD, Weill FX (2007) **Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars**. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Paris: Institut Pasteur.

Hall RM, Collis CM (1995) Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. **Molecular Microbiology** 15:593-600.

Hendlin D, Stapley EO, Jackson M, Wallick H, Miller AK, Wolf FJ, Miller TW, Chaiet L, Kahan FM, Foltz EL, Woodruff HB, Mata JM, Hernandez S, Mochales S (1969). Phosphonomycin, a new antibiotic produced by strains of streptomyces. **Science** 166:122-123.

Heuer OE, Kruse H, Grave K, Collignon P, Karunasagar I, Angulo FJ (2009) Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. **Clinical Infectious Diseases** 49:1248-1253.

Hirsh DC (2009) *Salmonella*. In: Hirsh DC, Chung Zee Y (Eds.) **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 69-73.

Hur J, Jawale C, Lee JH (2012) Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: a review. **Food Research International** 45:819-830.

Issenhuth-Jeanjean S, Roggentin P, Mikoleit M, Guibourdenche M, De Pinna E, Nair S, Fields PI, Weill FX (2014) Supplement 2008-2010 (n. 48) to the White-Kauffann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology** 165:526-530.

Iwabuchi E, Maruyama N, Hara A, Nishimura M, Muramatsu M, Ochiai T, Hirai K (2010) Nationwide survey of *Salmonella* prevalence in environmental dust from layer farms in Japan. **J Food Prot.** 73: 1993–2000

Jackson BR, Griffin PM, Cole D, Walsh KA, Chai SJ (2013). Outbreak associated *Salmonella* enterica serotypes and food commodities, United States, 1998-2008. **Emerging Infectious Diseases** 19:1239-1244.

Jana S, Deb JK (2006) Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. **Applied Microbiology and Biotechnology** 70:140-150.

Jean SS, Lee YT, Guo SM, Hsueh PR (2005) Recurrent infections caused by cefotaxime and ciprofloxacin-resistant *Salmonella* enterica serotype choleraesuis treated successfully with imipenem. **Journal of Infection** 51:163-165.

Kahan FM, Kahan JS, Cassidy PJ, Kropp H (1974). The mechanism of action of Fosfomycin (*Phosphonomycin*). **Annals of the New York Academy of Sciences** 235:364-386.

Kopecky J, Hrnecar C, Weis J (2012) Effect of organic acids supplement on performance of broiler chickens. **Animal Sciences and Biotechnologies** 45:51-54.

Kotra LP, Haddad J, Mobashery S (2000) Aminoglycosides: perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 44:3249-3256.

Kottwitz LBM, Back A, Leão JA, Alcocer I, Karan M, Oliveira TCRM (2008) Contaminação por *Salmonella* spp. em uma cadeia de produção de ovos de uma integração de postura comercial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 60:496-498.

Lagatta L, Gameiro AH (2017) Costs of biosecurity measures in Brazilian laying hens farms in response to policies against Avian Influenza, Newcastle Disease and Salmonellosis. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.** 18:231-238.

Lapuz RR, Umali DV, Suzuki T, Shirota K, Katoh H (2012) Comparison of the prevalence of *Salmonella* infection in layer hens from commercial layer farms with high and low rodent densities. **Avian Diseases** 56:29-34.

Lee MK, Kanatani MS (1999) Quinolones: which generation for which microbe? **Western Journal of Medicine** 170:359-361.

Liakopoulos A, Geurts Y, Dierikx CM, Brouwer MSM, Kant A, Wit B, Heymans B, Pelt W, Mevius DJ (2016) Extended-spectrum cephalosporin-resistant *Salmonella* enterica serovar heidelberg strains, the Netherlands. **Emerging Infectious Diseases** 22:1257-1261.

Liljebjelke KA, Hofacre CL, White DG, Ayers S, Lee MD, Maurer JJ (2017) Diversity of antimicrobial resistance phenotypes in *Salmonella* isolated from commercial poultry farms. **Frontiers in Veterinary Science** 4:1-9.

Lima T, Domingues S, Silva GJ (2019) Plasmid-mediated colistin resistance in *Salmonella enterica*: a review. **Microorganisms** 7:55.

Liu H, Whitehouse CA, Li B (2018) Presence and persistence of *Salmonella* in water: the impact on microbial quality of water and food safety. **Frontiers in Public Health** 6:159.

Long M, Yu H, Chen L, Wu G, Zhao S, Deng W, Chen S, Zhou K, Liu S, He L, Ao X, Yan Y, Ma M, Wang H, Davis MA, Jones L, Li B, Zhang A, Zou L (2017) Recovery of *Salmonella* isolated from eggs and the commercial layer farms. **Gut Pathogens** 14:9-74.

Ma K, Deng Y, Bai Y, Xu D, Chen E, Wu H, Li B, Gao L (2014) Rapid and simultaneous detection of *Salmonella*, *Shigella*, and *Staphylococcus aureus* in fresh pork using a multiplex real-time PCR assay based on immunomagnetic separation. **Food Control** 42:87-93.

Ma Z, Yang X, Fang Y, Tong Z, Lin H, Fan H (2018) Detection of *Salmonella* infection in chickens by an indirect enzyme-linked immunosorbent assay based on presence of pagC antibodies in sera. **Foodborne Pathogens Disease** 15:109-113.

Madigan MT, Martinko JM, Parker J (2004) **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice Hall, 608 p.

Manie, T. et al. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from slaughtered and retail chickens in South Africa (1998). **Letters in Applied Microbiology** 26:253-258.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2018) **Anuário dos Programas de Controle de Alimentos de Origem Animal do DIPOA**. Brasília, DF: Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Coordenação Geral de Programas Especiais 4. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos-publicacoes-dipoa/anuario-dipoa-v4>>. Acesso em: 20 maio 2019.

Marshall B, Petrowski D, Levy SB (1999) Inter and intraspecies spread of *Escherichia coli* in a farm environment in the absence of antibiotic usage. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 87:6609-6613.

Mayers DL (2009) **Antimicrobial of drug resistance: mechanisms of drug resistance**. Amsterdam: Springer.

Meakins S, Fisher IS, Berghold C, Gerner-Smidt P, Tschäpe H, Cormican M, Luzzi I, Schneider F, Wannett W, Coia J, Echeita A, Threlfall EJ (2008) Antimicrobial drug resistance in human nontyphoidal *Salmonella* isolates in Europe 2000-2004: A report from the enter-net international surveillance network. **Microbial Drug Resistance** 14:31-35.

Micallef SA, Goldstein RER, George A, Kleinfelder L, Boyer MS, McLaughlin CR, Estrin A, Ewing L, Beaubrun JJG, Hanes DE, Kothary MH, Tall BD, Razeq JH, Joseph SW, Sapkota (2012) Occurrence and antibiotic resistance of multiple *Salmonella* serotypes recovered from water, sediment and soil on mid-Atlantic tomato farms. **Environmental Research** 114:31-39.

Miriagou V, Carattoli A, Fanning S (2006) Antimicrobial resistance islands: resistance gene clusters in *Salmonella* chromosome and plasmids. **Microbes and Infection** 8:1923-1930.

Molina-Santiago C, Vicente A, Romero D (2018) The race for antimicrobials in the multidrug resistance era. **Microbial Biotechnology** 11:976-978.

Moraes DMC (2014) Fontes de infecção e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Salmonella* spp. isoladas no fluxo de produção de frangos de corte. **Animal Pathology** 81:195-201.

Moraes DMC, Duarte SC, Bastos TSA, Rezende CLG, Leandro NSM, Café MB, Stringhini JH, Andrade MA (2016) Detection of *Salmonella* spp. by conventional bacteriology and by quantitative polymerase-chain reaction in commercial egg structures. **Brazilian Journal of Poultry Science** 18:117-124.

Moreno-Bondi MC, Marazuela MD, Herranz S, Rodriguez E (2009) An overview of sample preparation procedures for LC-MS multiclass antibiotic determination in environmental and food samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry** 395:921-946.

Musgrove MT, Jones DR, Northcutt JK, Cox NA, Harrison MA, Fedorka-Cray PJ, Ladely SR (2006) Antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Escherichia coli* isolated from commercial shell eggs. **Poultry Science** 85:1665-1669.

Nield BS, Holmes AJ, Gillings MR, Recchia GD, Mabbutt BC, Nevalainen KM, Stokes HW (2001) Recovery of new integron classes from environmental DNA. **FEMS Microbiology Letters** 195:59-65.

Nor Faiza S, Saleha AA, Jalila A, Fauziah N (2013) Occurrence of *Campylobacter* and *Salmonella* in ducks and duck eggs in Selangor, Malaysia. **Tropical Biomedicine** 30:155-158.

O'Brien TF (2002) Emergence, spread, and environmental effect of antimicrobial resistance: how use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere else. **Clinical Infectious Diseases** 34:78-84.

OIE – Organisation Mondiale de la Santé Animale (2019) **Annual Report 2018 – Healthy animals for a better life.** Disponível em: <<http://oie.int/rapport2018/?lang=en>>. Acesso em: 1 jun. 2019.

Omiccioli E, Amagliani G, Brandi G, Magnani M (2009) A new platform for Real-Time PCR detection of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 in milk. **Food Microbiology** 26:615-622.

O'Neill J (2016) The Review on Antimicrobial – Teckling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. Disponível em: <[https://amr-review.org/sites/default/files/160525\\_Final%20paper\\_with%20cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf)>. Acesso em: 10 ago. 2019.

Pande VV, Gole VC, McWhorter AR, Abraham S, Chousalkar KK (2015) Antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella* isolates from egg layer flocks and egg shells. **International Journal of Food Microbiology** 203:23-26.

Perdoncini G, Ferreira JI, Lima LM, Rocha DT, Tejkowski TM, Pinto AT, Nascimento VP (2014) *Salmonella* spp. em ovos produzidos em sistema Agroecológico. **Revista Agrocientífica** 1:33-42.

Pezzoli L, Elson R, Little CL, Yip H, Fisher I, Yishai R, Anis E, Valinsky L, Biggerstaff M, Patel N, Mather H, Brown DJ, Coia JE, van Pelt W, Nielsen EM, Ethelberg S, de Pinna E, Hampton MD, Peters T, Threlfall J (2008) Packed with *Salmonella* – investigation of an international outbreak of *Salmonella* Senftenberg infection linked to contamination of prepacked basil in 2007. **Foodborne Pathogens and Disease** 5:661-668.

Poirel L, Jayol A, Nordmann P (2017) Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. **Clinical Microbiology Reviews** 30:557-596.

Poppe C (2000) *Salmonella* infections in the domestic fowl. In: Wray C, Wray A (Eds.) **Salmonella in domestic animals**. New York: CABI Publishing, p. 107-132.

Ramos LSN, Lopes JB, Silva SMMS, Silva FES, Ribeiro MN (2011) Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. **R. Bras. Zootec.** 40:1738-1744.

Rehman MA, Yin Xianhua, Persaud-Lachhman MG, Diarra MS (2017) First Detection of a Fosfomicin Resistance Gene, *fosA7*, in *Salmonella* enterica Serovar Heidelberg Isolated from Broiler Chickens. **Antimicrob. Agents Chemother.** 61: 00410-17 <https://doi.org/10.1128/AAC.00410-17>

Reis ROD, Souza MN, Cecconi MCP, Timm L, Ikuta N, Simon D, Wolf JM, Lunge VR (2018) Increasing prevalence and dissemination of invasive nontyphoidal *Salmonella* serotype Typhimurium with multidrug resistance in hospitalized patients from southern Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases** 22:424-432.

Ribeiro M, Cortina MA (2016) As principais bactérias de importância clínica e os mecanismos de resistência no contexto das infecções relacionadas à Assistência à saúde (IRAS). **Revista Científica UMC Mogi das Cruzes** 1:1-12.

Rodríguez EC, Díaz-Guevara P, Moreno J, Bautista A, Montaña L, Realpe ME, Della Gaspera A, Wiesner M (2017) Laboratory surveillance of *Salmonella enterica* from human clinical cases in Colombia 2005-2011. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica** 35:417-425.

Rodríguez I, Rodicio MR, Guerra B, Hopkins KL (2012) Potential international spread of multidrug-resistant invasive *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. **Emerging Infectious Diseases** 18:1173-1176.

Salles RPR, Teixeira RSC, Siqueira AA, Silva EE, Castro SB, Cardoso WM (2008) Monitoramento bacteriológico para *Salmonella* spp. em poedeira comercial na criação e produção de empresas avícolas da região metropolitana de Fortaleza, CE, Brasil. **Ciência Animal Brasileira** 9:427-432.

Samanta B, Ghosh PR, Biswas A, Das SK (2011) The effects of copper supplementation on the performance and hematological parameters of broiler chickens. **Journal of Animal Science** 24:1001-1006.

Sapkota AR, Kinney EL, George A, Hulet RM, Cruz-Cano R, Schwab KJ, Zhang G, Joseph SW (2014) Lower prevalence of antibiotic-resistant *Salmonella* on large-scale U.S. conventional poultry farms that transitioned to organic practices. **Science of the Total Environment** 476-477:387-392.

Schneider T, Sahl HG (2010) An oldie but a goodie - cell wall biosynthesis as antibiotic target pathway. **International Journal of Medical Microbiology** 300:161-169.

Schwarz S, Silley P, Simjee S, Woodford N, Duijkeren EV, Johnson AP, Gaastra W. (2010) Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. **Veterinary Microbiology** 141:1-4.

Shah DH, Paul NC, Sisco WC, Crespo R, Guard J (2017) Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated *Salmonella* serotypes. **Poultry Science** 96:687-702.

Shang K, Wei B, Kang M (2018) Distribution and dissemination of antimicrobial-resistant *Salmonella* in broiler farms with or without enrofloxacin use. **BMC Veterinary Research** 14:1-14.

Shinohara NKS, Barros VB, Jimenez SMC, Machado ECL, Dutra RAF, Lima Filho JL (2008) *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Revista Ciência e Saúde Coletiva** 13:1675-1683.

Silva E, Duarte A (2002) *Salmonella enteritidis* em aves: retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola** 4:85-100.

Skov MN, Andersen JS, Aabo S, Ethelberg S, Aarestrup FM, Sorensen AH, Sorensen G, Pedersen K, Nordentoft K, Olsen KEP, Gerner-Smidt P, Baggesen DL (2007) Antimicrobial drug resistance of *Salmonella* isolates from meat and humans, Denmark. **Emerging Infectious Diseases** 13:638-641.

Smith DL, Harris AD, Johnson JA, Silbergeld EK, Morris Jr JG (2002) Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 99:6434-6439.

Snow LC, Davies RH, Christiansen KC, Carrique-Mas JJ, Wales AD, O'Connor JL, Cook AJC, Evans SJ (2007) Survey of *Salmonella* prevalence on commercial layer farms in the United Kingdom. **Veterinary Record** 161:471-476.

Soria MC, Soria MA, Bueno DJ, Godano EI, Gómez SC, Via Butron IA, Padin VM, Rogé AD (2017) *Salmonella* spp. contamination in commercial layer hen farms using different types of samples and detection methods. **Poultry Science** 96:2820-2830.

Spinosa HS, Ito NMK, Miyaji CI (2011) Antimicrobianos: considerações gerais. In: Spinosa HS, Górnica SL, Bernardi MM (Eds.) **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Storm DR, Rosenthal KS, Swanson PE (1977) Polymyxin and related peptide antibiotics. **Annual Review of Biochemistry** 46:723-63.

Su LH, Wu TL, Chiu CH (2012) Development of carbapenem resistance during therapy for non-typhoid *Salmonella* infection. **Clinical Microbiology and Infection** 18:91-94.

Suarez C, Gudiol F (2009). Beta-lactam antibiotics. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica** 27:116-129.

SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde (2015) **Doenças transmitidas por alimentos**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Disponível em: <<http://u.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/09/Apresenta----o-dados-geraisDTA-2015.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2019.

Tagg KA, Francois Watkins L, Moore MD, Bennett C, Joung YJ, Chen JC, Folster JP (2018) Novel trimethoprim resistance gene *dfrA34* identified in *Salmonella* Heidelberg in the USA. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 74:38-41.

Tamang MD, Nam H, Kim T, Jang G, Jung S, Lim S (2011) Emergence of extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase (CTX-M-15 and CTX-M-14) – producing nontyphoid *Salmonella* with reduced susceptibility to ciprofloxacin among food animals and humans in Korea. **Journal of Clinical Microbiology** 49:2671-2675.

Taunay AE, Fernandes AT, Tavechio BC, Neves BC, Dias AMG, Irino K (1996) The role of public health laboratory in the problem of salmonellosis in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** 38:119-127.

Tavechio AT, Ghilardi AC, Peresi JT, Fuzihara TO, Yonamine EK, Jakabi M, Fernandes SA (2002) *Salmonella* serotypes isolated from nonhuman sources in São Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. **Journal of Food Protection** 65:1041-1044.

Taylor AJ, Lappi V, Wolfgang WJ, Lapierre P, Palumbo MJ, Medus C, Boxrud D (2015) Characterization of foodborne outbreaks of *Salmonella enterica* serovar enteritidis with whole-genome sequencing single nucleotide polymorphism-based analysis for surveillance and outbreak detection. **Journal of Clinical Microbiology** 53:3334-3340.

Taylor LH, Latham SM, Woolhouse MEJ (2001) Risk factors for human disease emergence. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences** 356:983-989.

Thamlikitkul V, Tiengrim S (2014) In vitro activity of colistin plus sulbactam against extensive-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* by checkerboard method. **Journal of the Medical Association of Thailand** 97:S1-S3.

Toghyani M, Toghyani M, Gheisari A, Ghalamkari G, Eghbalsaied S (2011) Evaluation of cinnamon and garlic as antibiotic growth promoter substitutions on performance, immune responses, serum biochemical and haematological parameters in broiler chicks. **Livestock Science** 138:167–173.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL (2017) **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 935 p.

Wachino J, Arakawa Y (2012) Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. **Drug Resistance Updates** 15:133-148.

WHO – World Health Organization (2012) **Critically important antimicrobials for human medicine**. Disponível em: <[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77376/1/9789241504485\\_eng.pdf?ua=1&ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77376/1/9789241504485_eng.pdf?ua=1&ua=1)>. Acesso em: 23 out. 2017.

WHO – World Health Organization (2017) **Salmonella**. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/Salmonella/en/>>. Acesso em: 22 out. 2018.

Wright GD (2010) Q&A: Antibiotic resistance: where does it come from and what can we do about it? **BMC Biology** 8:123.

Yang B, Qu D, Zhang X, Shen J, Cui S, Shi Y, Xi M, Sheng M, Zhi S, Meng J (2010) Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China. **International Journal of Food Microbiology** 141:63-72.

Zamudio-Chávez O, Méndez-Tovar S, Apodaca-Tomas K, Cruz-Hernández M (2017) Estudio de sensibilidad de fosfomicina en enterobacterias y microorganismos multidrogosresistentes de muestras de pacientes del Hospital General «Dr. Gaudencio González Garza» del CMN «La Raza». **Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio** 64:114-119.

Zancan FT, Berchieri Junior A, Fernandes SA, Gama NMSQ (2000) *Salmonella* spp investigation in transport boxes of day-old birds. **Brazilian Journal of Microbiology** 31:230-232.