

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 06/02/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**RESISTOMA DE ISOLADOS *SALMONELLA* spp. OBTIDOS DE CARÇAÇAS
E CORTES DE FRANGO: UMA ANÁLISE TEMPORAL DE 2004 A 2020**

EVELYN FERNANDA FLORES CARON

BOTUCATU - SP
FEVEREIRO DE 2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**RESISTOMA DE ISOLADOS *SALMONELLA* spp. OBTIDOS DE CARCAÇAS
E CORTES DE FRANGO: UMA ANÁLISE TEMPORAL DE 2004 A 2020**

EVELYN FERNANDA FLORES CARON

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

Orientador: Prof. Dr. Juliano Gonçalves
Pereira

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Sossai
Possebon

C293r

Caron, Evelyn Fernanda Flores Caron

RESISTOMA DE ISOLADOS SALMONELLA spp. OBTIDOS DE CARCAÇAS E
CORTES DE FRANGO: UMA ANÁLISE TEMPORAL DE 2004 A 2020 / Evelyn
Fernanda Flores Caron Caron. -- Botucatu, 2025

96 p.

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

Orientador: Juliano Gonçalves Pereira Pereira

Coorientador: Fábio Sossai Possebon Possebon

1. Resistência antimicrobiana. 2. Genes de resistência. 3. Antimicrobianos. 4. Carne
de frango. 5. Mecanismos de resistência. I. Título.

Nome do autor: Evelyn Fernanda Flores Caron

Título: RESISTOMA DE ISOLADOS *SALMONELLA* spp. OBTIDOS DE CARÇAÇAS E CORTES DE FRANGO: UMA ANÁLISE TEMPORAL DE 2004 A 2020.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Juliano Gonçalves Pereira

Presidente e Orientador

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva
UNESP, campus Botucatu.

Prof. Dr. Felipe Fornazari

Membro

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva
UNESP, campus Botucatu.

Prof. Dr^a. Camila Michele Appolinário

Membro

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva
UNESP, campus Botucatu.

Prof. Dr. Mateus de Souza Ribeiro Mioni

Membro

Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única
UNESP, campus Jaboticabal

Prof Dr. Marcus Vinícius Coutinho Cossi

Membro

Departamento de Veterinária
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Data da defesa: 06/02/2024

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE EVELYN FERNANDA FLORES CARON, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA, DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA - CÂMPUS DE BOTUCATU

Aos 06 dias do mês de fevereiro do ano de 2025, às 14h, no(a) Sala 4 da Central de Aulas do HV, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de EVELYN FERNANDA FLORES CARON intitulada 'RESISTÊNCIA DE ISOLADOS DE SALMONELLA SPP. OBTIDOS DE CARCASSAS E CORTES DE FRANGO: UMA ANÁLISE TEMPORAL DE 2004 A 2020.'

A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. JULIANO GONÇALVES PEREIRA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) DPAMVP / FMVZ - UNESP, Prof. Dr. FELIPE FORNAZARI (Participação Presencial) do(a) DPAMVP / FMVZ - UNESP, Profa. Dra. CAMILA MICHELE APPOLINÁRIO (Participação Presencial) do(a) DPAMVP / FMVZ - UNESP, Prof. Dr. MATEUS DE SOUZA RIBEIRO MIONI (Participação Virtual) do(a) DPRSU / FCAV - UNESP, Dr. MARCUS VINÍCIUS COUTINHO COSSI (Participação Virtual) do(a) DMV / UFU. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Prof. Dr. JULIANO GONÇALVES PEREIRA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Lilian e José Alberto, cujo amor incondicional, apoio inabalável e sacrifícios incansáveis foram a base sobre a qual construí cada passo deste caminho acadêmico. Expresso também minha gratidão ao meu irmão, Fábio, que sempre me encheu de orgulho e admiração. Sua presença ao lado dos nossos pais, trabalhando incansavelmente, desempenhou um papel fundamental para que a pós-graduação se tornasse possível para mim.

Agradeço especialmente à minha filha Heloísa, que, mesmo antes de nascer, já trouxe luz, força e sentido aos meus dias. Estar gestante na reta final deste doutorado foi um desafio e uma bênção. Cada movimento seu me lembrou da importância de persistir e concluir essa etapa, não apenas por mim, mas também por você. Que este trabalho seja uma pequena parte do legado de dedicação e amor que espero transmitir a você.

Ao meu amado companheiro, Leandro, sua compreensão, paciência e amor foram como uma brisa refrescante em meio aos desafios acadêmicos. Seu apoio constante e encorajamento foram fundamentais para minha saúde emocional e equilíbrio durante os períodos mais intensos de estudo.

Às minhas amigas, Aryele, Camila, Thaisy e Hornblenda, que estiveram ao meu lado ao longo de toda essa jornada, compartilhando não apenas alegrias, mas também desafios. Suas palavras de incentivo foram fundamentais para manter minha determinação e foco. Agradeço à Larissa e ao Wanderson, do Laboratório de Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP), por estarem sempre disponíveis para ajudar no que fosse preciso.

Ao meu orientador, Professor Juliano, e coorientador, Professor Fábio, expresso minha gratidão pela confiança atribuída, pelo valioso conhecimento transmitido e pelo empenho que possibilitou a realização desta pesquisa.

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

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de doutorado, viabilizando essa pesquisa.

Por fim, expresso meu sincero agradecimento a todos aqueles que contribuíram, em algum momento, para a realização desta pesquisa.

CARON, EVELYN FERNANDA FLORES. RESISTOMA DE ISOLADOS *SALMONELLA* spp. OBTIDOS DE CARCAÇAS E CORTES DE FRANGO: UMA ANÁLISE TEMPORAL DE 2004 A 2020. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), 96p.

Resumo

Devido à importância da resistência antimicrobiana na saúde pública e a crescente identificação de genes de resistência por técnicas moleculares, o estudo investigou o perfil genotípico de *Salmonella* spp. isolados de carcaças e cortes de frango entre 2004 e 2020, comparando a resistência fenotípica e genotípica aos antimicrobianos. Foram analisados 28 isolados, divididos em "antigos" (2004-2006) e "novos" (2019-2020). O método de disco-difusão foi utilizado para obter o perfil fenotípico e o sequenciamento de próxima geração (NGS) para identificar genes de resistência antimicrobiana. Entre os isolados "antigos" (n=12), o sorovar Enteritidis foi mais prevalente. Dois isolados antigos apresentaram resistência fenotípica para estreptomicina, mas houve uma variedade de genes de resistência, incluindo *ampC1*, *ampH*, *PBP3*, *TEM-60* e *TER-1* (beta-lactâmicos), *AAC(6')-Iy* (aminoglicosídeos) e *gyrA* (fluorquinolonas), além de genes de bomba de efluxo. Nos isolados "novos" (n=16), o sorovar mais prevalente foi Heidelberg. Apenas um isolado demonstrou sensibilidade fenotípica a todos os antibióticos testados. A resistência mais frequente foi para tetraciclina (87,50% dos isolados resistentes), seguido por ceftazidima, cefoxitina e ampicilina (75%), estreptomicina (18,75%), imipenem, ciprofloxacina e cloranfenicol (6,25%). O perfil genotípico dos isolados novos foi mais diversificado, com presença dos genes *ampC1*, *ampH*, *PBP3*, *TEM-60*, *blaCMY-2*, *CMY-2*, *CMY-99*, *CMY-102* e *TLA-2* (beta-lactâmicos), *AAC(6')-Iy*, *aadA*, *aph(3')-Ia* e *AAC(6')-Iaa* (aminoglicosídeos); *qnrB19* (fluorquinolonas); *sul2* (sulfametoxazol-trimetoprim); *floR* (fenicóis) e *tet(A)* (tetraciclinas), além de genes de bomba de efluxo. Os isolados novos apresentaram maior diversidade e frequência de resistência antimicrobiana tanto fenotípica quanto genotípica em comparação aos isolados antigos.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana; genes de resistência; antimicrobianos; carne de frango; mecanismos de resistência.

CARON, EVELYN FERNANDA FLORES. Resistome of *Salmonella* spp. isolates obtained from chicken carcasses and cuts: A temporal analysis from 2004 to 2020. Doctoral Thesis – São Paulo State University (UNESP), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, 96p.

Abstract

Given the importance of antimicrobial resistance in public health and the increasing identification of resistance genes through molecular techniques, this study investigated the genotypic profile of *Salmonella* spp. isolated from chicken carcasses and cuts between 2004 and 2020, comparing phenotypic and genotypic resistance to antimicrobials. A total of 28 isolates were analyzed, categorized as "old" (2004-2006) and "new" (2019-2020). The disk diffusion method was employed to determine the phenotypic profile, and next-generation sequencing (NGS) was used to identify antimicrobial resistance genes. Among the "old" isolates (n=12), the most prevalent serovar was Enteritidis. Only two old isolates exhibited phenotypic resistance to streptomycin, yet a variety of resistance genes were found, including *ampC1*, *ampH*, *PBP3*, *TEM-60*, and *TER-1* (beta-lactams), *AAC(6')-Iy* (aminoglycosides), and *gyrA* (fluoroquinolones), along with efflux pump genes. In the "new" isolates (n=16), the most prevalent serovar was Heidelberg. Only one isolate showed phenotypic sensitivity to all tested antibiotics. The most frequent resistance was to tetracycline (87.50% of resistant isolates), followed by ceftazidime, cefoxitin, and ampicillin (75%), streptomycin (18.75%), imipenem, ciprofloxacin, and chloramphenicol (6.25%). The genotypic profile of the new isolates was more diverse, with the presence of genes such as *ampC1*, *ampH*, *PBP3*, *TEM-60*, *blaCMY-2*, *CMY-2*, *CMY-99*, *CMY-102*, and *TLA-2* (beta-lactams), *AAC(6')-Iy*, *aadA*, *aph(3')-Ia*, and *AAC(6')-Iaa* (aminoglycosides), *qnrB19* (fluoroquinolones), *sul2* (sulfamethoxazole-trimethoprim), *floR* (phenicols), and *tet(A)* (tetracyclines), in addition to efflux pump genes. The new isolates exhibited a greater diversity and frequency of antimicrobial resistance both phenotypically and genotypically compared to the old isolates.

Keywords: Antimicrobial resistance; resistance genes; antimicrobials; chicken meat; resistance mechanisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Relação entre sorotipos encontrados em isolados antigos e novos. .	38
Figura 2. Diagrama relacionando a distribuição dos genes de resistência entre isolados antigos e novos para cada classe antimicrobiana.....	43
Figura 3. Diagrama relacionando a distribuição dos genes de resistência entre isolados antigos e novos para cada classe antimicrobiana.	44
Figura 4. Representação do total de genes encontrados em isolados antigos e novos.	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. A relação entre o perfil fenotípico e genotípico de ambos dos isolados antigos e novos	39
--	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal

CDC - Center for Disease Control and Prevention (Centro de Controle e Prevenção de Doenças)

CIM - Concentração Inibitória Mínima

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais)

COG - Clusters de Grupos Ortológicos (Clusters of Orthologous Groups)

ESBL - Beta-lactamase de espectro estendido (Extended Spectrum Beta-Lactamase)

IBTEC - Instituto de Biotecnologia - UNESP

MDR - Multidroga resistência

NARMS - Sistema Nacional de Monitoramento de Resistência Antimicrobiana

NGS - Next Generation Sequencing (Sequenciamento de Nova Geração)

NTS - *Salmonella* não tifoide

OMS - Organização Mundial da Saúde

PBPs - Proteínas de Ligação à Penicilina

PMQR - Resistência mediada por plasmídeos às quinolonas (Plasmid Mediated Quinolone Resistance)

QRDR - Região determinante da resistência às quinolonas (Quinolone Resistance Determining Region)

SOAP - Serviço de Orientação a Alimentação Pública - UNESP

WGS - Sequenciamento do Genoma Completo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	6
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Gênero <i>Salmonella</i> spp.....	4
2.2 Fontes de contaminação	4
2.3 Importância em saúde pública	5
2.4 Sorovares associados a surtos.....	6
2.5 Resistência antimicrobiana em <i>Salmonella</i> spp.	7
2.6 Mecanismos de ação dos antimicrobianos	8
2.6.1 Inibidores da síntese da parede celular	8
2.6.2 Inibidores da DNA girase.....	8
2.6.3 Inibidores da síntese de proteínas (30S E 50S).....	9
2.6.4 Inibidores da síntese de folato	9
2.7 Mecanismos de resistência antimicrobiana.....	10
2.7.1 Alteração da permeabilidade	10
2.7.2 Alteração do sítio de ação	10
2.7.2.1 Mutações nos alvos DNA girase e Topoisomerase IV	11
2.7.3 Mecanismo enzimático	11
2.7.4 Bombas de efluxo.....	12
2.7.4.1 Superfamília de facilitadores principais (MFS)	12
2.7.4.2 Família de resistência-nodulação-divisão celular (RND)	13
2.7.4.3 Família de resistência multidrogas pequenas (SMR)	13
2.7.4.4 Família de extrusão de compostos multidrogas e tóxicos (MATE) ...	14
2.7.4.5 Superfamília de cassete de ligação a ATP (ABC)	14
2.8 Disseminação da resistência	15
2.9 Antimicrobianos críticos e o desafio da resistência	16
2.10 Uso de tecnologias de sequenciamento genético	17
2.11 Conclusão.....	18
3 OBJETIVOS	19
4 Referências:	20
CAPÍTULO 2	28
Artigo 1:.....	28
Resistoma de isolados <i>Salmonella</i> spp. obtidos de carcaças e cortes de frango: uma análise temporal de 2004 a 2020.....	28
Resumo	30

ABSTRACT	31
1. Introdução	32
2. Material e métodos.....	35
3. Resultados.....	38
4. Discussão	47
5. Conclusão.....	56
Referências:	57
Artigo 2:.....	66
Sensibilidade à colistina em <i>Salmonella</i> Bredeney e <i>Salmonella</i> Heidelberg positivos para a presença do gene <i>MCR-9.1</i> isolados com quinze anos de diferença.....	66
Resumo	68
ABSTRACT	69
1. Introdução	70
2. Material e métodos.....	71
2.2 Origem dos isolados de <i>Salmonella</i> spp.....	71
2.3 Sequenciamento de Genoma Completo (Next Generation Sequencing - NGS).....	72
2.3.1 Incubação e extração de DNA.....	72
2.3.2 Análise de pureza e quantificação de DNA.....	72
2.3.3 Preparação das bibliotecas	72
2.3.4 Sequenciamento genético	73
2.3.5 Análise bioinformática	73
2.3.6 Anotações e identificação de genes de resistência	73
2.4 Perfil fenotípico de sensibilidade à colistina	73
2.4.1 Meio de cultura.....	73
2.4.2 Preparo do inóculo	74
2.4.3 Inoculação das placas	74
2.4.4 Incubação.....	74
2.4.5 Leitura dos resultados	74
3. Resultados e discussão.....	75
4. Conclusões.....	77
Referências	79
CAPÍTULO 3	83
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Com o passar dos anos, foi estabelecida uma conexão entre o uso indiscriminado de antibióticos e o desenvolvimento da resistência antimicrobiana. O uso desordenado de antibióticos, seja para tratar infecções ou como agentes zootécnicos promotores de crescimento, pode criar uma pressão seletiva sobre as bactérias, favorecendo o desenvolvimento de resistência e comprometendo a eficácia desses medicamentos no tratamento de futuras infecções, aumentando a distribuição de cepas resistentes aos compostos antimicrobianos (Davies *et al.*, 2013).

A resistência antimicrobiana (RAM) é considerada um grande desafio para a saúde pública e a economia global (O'Neill, 2016). Um estudo abrangente estimou a carga global de RAM entre 1990 e 2021, destacando que, em 2021, a RAM esteve associada a 4,71 milhões de mortes, sendo 1,14 milhões atribuíveis diretamente à resistência bacteriana, sendo as bactérias Gram-negativas resistentes a carbapenêmicos e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina foram os principais contribuintes para a carga de RAM globalmente. Projeções indicam que, até 2050, a RAM poderá causar até 8,22 milhões de mortes por ano, especialmente em idosos e em regiões como o sul da Ásia e América Latina (Naghavi *et al.*, 2024). São necessárias ações para a preservação da eficácia dos antibióticos já existentes, desenvolvimento de novos compostos e cooperação entre a medicina humana e veterinária para combater da melhor forma esse desafio global em saúde pública (Davies *et al.*, 2013).

A multirresistência ocorre quando um microrganismo é capaz de resistir à ação de várias classes de antimicrobianos após exposição a eles. Um microrganismo com essa característica é denominado multidroga resistente (MDR). A ocorrência de MDR é reconhecida como um dos mais importantes problemas de saúde pública. Esse fenômeno surgiu como consequência do uso indiscriminado e da pressão seletiva do uso dos antibióticos na medicina humana e veterinária (Da Costa; Loureiro; Matos, 2013; Van Duin; Paterson, 2016).

A resistência aos antibióticos de primeira escolha entre as espécies de *Salmonella* é crescente (Crump *et al.*, 2015). De 2010 para 2014 a multirresistência em *Salmonella* Typhi aumentou de 7% para 97% no Malawi. Nos Estados Unidos da América (EUA), *Salmonella* Enteritidis foi responsável por 50% das infecções resistentes à ciprofloxacina S. Newport, S. Typhimurium

35 e *S. Heidelberg* foram responsáveis por 75% das infecções resistentes à
36 ceftriaxona e ampicilina, indicando que a resistência antimicrobiana em
37 *Salmonella* pode ser específica do sorotipo (Feasey *et al.*, 2015; Medalla *et al.*,
38 2016).

39 O desenvolvimento de novas classes de antibióticos tem sido um desafio,
40 e o futuro da medicina moderna depende de novas drogas eficazes. Entre 1930
41 e 1960, vinte classes de antimicrobianos foram disponibilizadas no mercado e
42 apresentaram grande eficácia em média por 50 anos, o que leva a conclusão de
43 que é que para continuar avançando contra a resistência antimicrobiana,
44 principalmente aquelas causadas por *Enterobacteriaceae* produtores de metalo-
45 beta-lactamase que neutralizam os carbapenêmicos, atualmente uma importante
46 classe antimicrobiana (Coates; Halls; Hu, 2011; Kumarasamy *et al.*, 2010).

47 O uso da tecnologia de sequenciamento do genoma completo (WGS) para
48 identificar marcadores de resistência antimicrobiana e correlacioná-los com os
49 fenótipos de sensibilidade aos antimicrobianos representa uma importante
50 ferramenta de vigilância da resistência antimicrobiana em *Salmonella*. Os dados
51 obtidos através do WGS além de orientar as decisões clínicas para os pacientes
52 com salmonelose, podem contribuir para elucidação do crescimento da
53 resistência antimicrobiana com o passar dos anos (McDermott; Zhao; Tate, 2018;
54 Rodrigues *et al.*, 2020). Uma análise de 928 genomas completos de *Salmonella*
55 spp. desde a década de 1980 até a década de 2010, demonstrou que após os
56 anos 2000 houve um aumento nas taxas de frequência de genes de resistência
57 para tetraciclina, sulfonamidas e cefalosporinas no Brasil e a análise resistência
58 fenotípica seguiu semelhante ao perfil genético. Este padrão sugere uma
59 evolução contínua e preocupante da resistência antimicrobiana nessas cepas ao
60 longo das últimas décadas (Rodrigues *et al.*, 2020).

61 Visando essas informações, para melhor compreensão de como a
62 resistência está mudando ao longo do tempo, o estudo se propôs a comparar o
63 perfil fenotípico e genotípico de isolados de *Salmonella* spp. com quatorze anos
64 de diferença, destacando a importância do uso de tecnologias como o
65 sequenciamento do genoma completo, para identificar genes específicos de
66 resistência e entender como a resistência se manifesta ao longo dos anos.

4 Referências:

ALMEIDA, I. A. Z. C. DE *et al.* *Salmonella* Alachua: causative agent of a foodborne disease outbreak. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, n. 3, p. 233–238, maio 2015.

AMOS, G. C. A. *et al.* Functional metagenomic analysis reveals rivers are a reservoir for diverse antibiotic resistance genes. **Veterinary Microbiology**, v. 171, n. 3–4, p. 441–447, jul. 2014.

BASTI, A. A. *et al.* Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. **Food Control**, v. 17, n. 3, p. 183–188, mar. 2006.

B.M. KOTTWITZ, L. *et al.* Decline of *Salmonella* Enteritidis in poultry. **British Food Journal**, v. 115, n. 11, p. 1541–1546, 21 out. 2013.

BRASIL, M. DA SAÚDE. S. DE V. EM SAÚDE. **Vigilância em saúde no Brasil 2003|2019: da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais.**

BULA-RUDAS, F. J.; RATHORE, M. H.; MARAQA, N. F. *Salmonella* Infections in Childhood. **Advances in Pediatrics**, v. 62, n. 1, p. 29–58, ago. 2015.

BUSH, K. Antimicrobial agents targeting bacterial cell walls and cell membranes. **Revue Scientifique et Technique de l'OIE**, v. 31, n. 1, p. 43–56, 1 abr. 2012.

CDC, C. FOR D. C. AND P. **Antibiotic resistance threats in the United States.**

CHEN, H.-M. *et al.* Nontyphoid *Salmonella* Infection: Microbiology, Clinical Features, and Antimicrobial Therapy. **Pediatrics & Neonatology**, v. 54, n. 3, p. 147–152, jun. 2013.

COATES, A. R.; HALLS, G.; HU, Y. Novel classes of antibiotics or more of the same? **British Journal of Pharmacology**, v. 163, n. 1, p. 184–194, 6 maio 2011.

CRUMP, J. A. *et al.* Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 4, p. 901–937, out. 2015.

DA COSTA, P.; LOUREIRO, L.; MATOS, A. Transfer of Multidrug-Resistant Bacteria Between Intermingled Ecological Niches: The Interface Between Humans, Animals and the Environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 10, n. 1, p. 278–294, 14 jan. 2013.

DAVIES, S. C. *et al.* Annual Report of the Chief Medical Officer: infection and the rise of antimicrobial resistance. **The Lancet**, v. 381, n. 9878, p. 1606–1609, maio 2013.

DELCOUR, A. H. Outer membrane permeability and antibiotic resistance. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics**, v. 1794, n. 5, p. 808–816, maio 2009.

DUTIL, L. *et al.* Ceftiofur Resistance in *Salmonella enterica* Seroovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 48–54, jan. 2010.

EFSA. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 19, n. 2, fev. 2021.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). **Antibiotic resistance policy briefing. Antimicrobial resistance: Policy briefing.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/pt/publications/Publications/antibiotic-resistance-policy-briefing.pdf>>. Acesso em: 24 nov. 2024.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). **Committee for Medicinal Products for Veterinary use (CVMP) Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP).** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientific-advice-impact-public-health-and-animal-health-use-antibiotics-animals_en.pdf>. Acesso em: 24 nov. 2024.

- 633 FEASEY, N. A. *et al.* Rapid Emergence of Multidrug Resistant, H58-Lineage
 634 *Salmonella* Typhi in Blantyre, Malawi. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.
 635 9, n. 4, p. e0003748, 24 abr. 2015.
- 636
- 637 FEASEY, N. A. *et al.* Distinct *Salmonella* Enteritidis lineages associated with
 638 enterocolitis in high-income settings and invasive disease in low-income settings.
 639 **Nature Genetics**, v. 48, n. 10, p. 1211–1217, 22 out. 2016.
- 640
- 641 FERNANDES, S. A. *et al.* *Salmonella* enterica serotypes from human and
 642 nonhuman sources in Sao Paulo State, Brazil, 2004-2020. **Revista do Instituto**
 643 **de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 64, 2022.
- 644
- 645 FERRARI, R. G. *et al.* Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in
 646 Animal-Based Foods: a Meta-analysis. **Applied and Environmental**
 647 **Microbiology**, v. 85, n. 14, 15 jul. 2019.
- 648
- 649 GEORGOPAPADAKOU, N. H.; LIU, F. Y. Penicillin-binding proteins in bacteria.
 650 **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 18, n. 1, p. 148–157, jul. 1980.
- 651
- 652 GOSWITZ, V. C.; BROOKER, R. J. Structural features of the
 653 uniporter/symporter/antiporter superfamily. **Protein Science**, v. 4, n. 3, p. 534–
 654 537, 24 mar. 1995.
- 655
- 656 HIGGINS, P.; FLUIT, A.; SCHMITZ, F.-. Fluoroquinolones: Structure and Target
 657 Sites. **Current Drug Targets**, v. 4, n. 2, p. 181–190, 1 fev. 2003.
- 658
- 659 HOLLAND, I. B. *et al.* **ABC proteins: from bacteria to man**. London: Elsevier,
 660 2003.
- 661
- 662 HOOPER, D. C. Bacterial Topoisomerases, Anti-Topoisomerases, and Anti-
 663 Topoisomerase Resistance. **Clinical Infectious Diseases**, v. 27, n. s1, p. S54–
 664 S63, ago. 1998.
- 665
- 666 HOOPER, D. C.; JACOBY, G. A. Topoisomerase Inhibitors: Fluoroquinolone
 667 Mechanisms of Action and Resistance. **Cold Spring Harbor Perspectives in**
 668 **Medicine**, v. 6, n. 9, p. a025320, set. 2016.

- 669 KAMPRANIS, S. C.; MAXWELL, A. The DNA Gyrase-Quinolone Complex.
670 **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 35, p. 22615–22626, ago. 1998.
- 671
- 672 KATZ, L.; ASHLEY, G. W. Translation and Protein Synthesis: Macrolides.
673 **Chemical Reviews**, v. 105, n. 2, p. 499–528, 1 fev. 2005.
- 674
- 675 KHAN, M.; SHAMIM, S. Understanding the Mechanism of Antimicrobial
676 Resistance and Pathogenesis of *Salmonella* enterica Serovar Typhi.
677 **Microorganisms**, v. 10, n. 10, p. 2006, 11 out. 2022.
- 678
- 679 KOHANSKI, M. A.; DWYER, D. J.; COLLINS, J. J. How antibiotics kill bacteria:
680 from targets to networks. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 6, p. 423–435,
681 4 jun. 2010.
- 682
- 683 KOTTWITZ, L. B. M. *et al.* Avaliação epidemiológica de surtos de salmonelose
684 ocorridos no período de 1999 a 2008 no Estado do Paraná, Brasil. **Acta**
685 **Scientiarum. Health Science**, v. 32, n. 1, 1 jan. 2010.
- 686
- 687 KUMARASAMY, K. K. *et al.* Emergence of a new antibiotic resistance mechanism
688 in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study.
689 **The Lancet Infectious Diseases**, v. 10, n. 9, p. 597–602, set. 2010.
- 690
- 691 KURODA, T.; TSUCHIYA, T. Multidrug efflux transporters in the MATE family.
692 **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics**, v. 1794, n.
693 5, p. 763–768, maio 2009.
- 694
- 695 LAMBERT, P. Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. **Advanced**
696 **Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 10, p. 1471–1485, 29 jul. 2005.
- 697
- 698 LE MINOR, L. The genus *Salmonella*. In: **The Prokaryotes: A handbook on**
699 **habitats, isolation, and identification of bacteria**. 2nd. ed. Berlin: Springer-
700 Verlag, 1986. v. 2p. 1148–1159.
- 701
- 702 LEE, A. *et al.* Interplay between Efflux Pumps May Provide Either Additive or
703 Multiplicative Effects on Drug Resistance. **Journal of Bacteriology**, v. 182, n.
704 11, p. 3142–3150, jun. 2000.

- 705 LI, X.-Z.; NIKAIDO, H. Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria. **Drugs**, v.
706 64, n. 2, p. 159–204, 2004.
- 707
- 708 LUVSANSCHARAV, U. O. *et al.* *Salmonella* Serotypes: A Novel Measure of
709 Association with Foodborne Transmission. **Foodborne Pathogens and**
710 **Disease**, v. 17, n. 2, p. 151–155, 1 fev. 2020.
- 711
- 712 MA, D. *et al.* Genes *acrA* and *acrB* encode a stress-induced efflux system of
713 *Escherichia coli*. **Molecular Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 45–55, 27 abr. 1995.
- 714
- 715 MAGIORAKOS, A. P. *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and
716 pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard
717 definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18,
718 n. 3, p. 268–281, 2012.
- 719
- 720 MAPA. **PROGRAMA DE VIGILÂNCIA E MONITORAMENTO DA**
721 **RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS NO ÂMBITO DA AGROPECUÁRIA**
722 **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA 2ª Fase.** [s.l: s.n.]. Disponível
723 em: <[https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/pan-br-agro/AMR2Fase_FINAL.pdf)
724 [agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/pan-br-](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/pan-br-agro/AMR2Fase_FINAL.pdf)
725 [agro/AMR2Fase_FINAL.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/pan-br-agro/AMR2Fase_FINAL.pdf)>. Acesso em: 24 nov. 2024.
- 726
- 727 MARTÍNEZ, J. L. *et al.* Genomic and metagenomic technologies to explore the
728 antibiotic resistance mobilome. **Annals of the New York Academy of Sciences**,
729 v. 1388, n. 1, p. 26–41, 10 jan. 2017.
- 730
- 731 MATTIELLO, S. P. *et al.* Characterization of antimicrobial resistance in
732 *Salmonella* enterica strains isolated from Brazilian poultry production. **Antonie**
733 **van Leeuwenhoek**, v. 108, n. 5, p. 1227–1238, 3 nov. 2015.
- 734
- 735 MCDERMOTT, P. F.; ZHAO, S.; TATE, H. Antimicrobial Resistance in
736 Nontyphoidal *Salmonella*. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 4, 27 jul. 2018.
- 737
- 738 MEDALLA, F. *et al.* Estimated Incidence of Antimicrobial Drug-Resistant
739 Nontyphoidal *Salmonella* Infections, United States, 2004–2012. **Emerging**
740 **Infectious Diseases**, v. 23, n. 1, p. 29–37, jan. 2016.

- 741 MICHAEL, G. B. *et al.* **Genes and mutations conferring antimicrobial**
742 **resistance in *Salmonella*: an update.** *Microbes and Infection*, jun. 2006.
- 743
- 744 MISHRA, N. N. *et al.* Daptomycin Resistance in Enterococci Is Associated with
745 Distinct Alterations of Cell Membrane Phospholipid Content. **PLoS ONE**, v. 7, n.
746 8, p. e43958, 27 ago. 2012.
- 747
- 748 NAGHAVI, M. *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–
749 2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. **The Lancet**, v. 404, n. 10459,
750 p. 1199–1226, set. 2024.
- 751
- 752 OMOTE, H. *et al.* The MATE proteins as fundamental transporters of metabolic
753 and xenobiotic organic cations. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 27, n.
754 11, p. 587–593, nov. 2006.
- 755
- 756 OMS, O. M. DA S. ***Salmonella* (non-typhoidal).**
- 757
- 758 O'NEILL, J. **Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and**
759 **Recommendations.**
- 760
- 761 PAO, S. S.; PAULSEN, I. T.; SAIER, M. H. Major Facilitator Superfamily.
762 **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 1, p. 1–34, mar. 1998.
- 763
- 764 PAULSEN, I. T. *et al.* A family of Gram-negative bacterial outer membrane factors
765 that function in the export of proteins, carbohydrates, drugs and heavy metals
766 from Gram-negative bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 156, n. 1, p. 1–8,
767 17 jan. 2006.
- 768
- 769 PENG, M. *et al.* Alterations of *Salmonella* enterica Serovar Typhimurium
770 Antibiotic Resistance under Environmental Pressure. **Applied and**
771 **Environmental Microbiology**, v. 84, n. 19, out. 2018.
- 772
- 773 PINTO, U. M.; CARDOSO, R. R.; VANETTI, M. C. D. Detecção de *Listeria*,
774 *Salmonella* e *Klebsiella* em serviço de alimentação hospitalar. **Revista de**
775 **Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 319–326, set. 2004.

- 776 POPOFF, M. Y.; BOCKEMÜHL, J.; BRENNER, F. W. Supplement 1999 (no. 43)
 777 to the Kauffmann-White scheme. **Research in Microbiology**, v. 151, n. 10, p.
 778 893–896, dez. 2000.
- 779
- 780 PULINGAM, T. *et al.* Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden,
 781 mechanisms of resistance and strategies to overcome. **European Journal of**
 782 **Pharmaceutical Sciences**, v. 170, p. 106103, mar. 2022.
- 783
- 784 RICE, L. B. Mechanisms of Resistance and Clinical Relevance of Resistance to
 785 β -Lactams, Glycopeptides, and Fluoroquinolones. **Mayo Clinic Proceedings**, v.
 786 87, n. 2, p. 198–208, fev. 2012.
- 787
- 788 RODRIGUES, G. L. *et al.* Frequency of Antimicrobial Resistance Genes in
 789 *Salmonella* From Brazil by in silico Whole-Genome Sequencing Analysis: An
 790 Overview of the Last Four Decades. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 7 ago.
 791 2020a.
- 792
- 793 RODRIGUES, G. L. *et al.* Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal *Salmonella*
 794 Isolates from Human and Swine Sources in Brazil: A Systematic Review of the
 795 Past Three Decades. **Microbial Drug Resistance**, v. 26, n. 10, p. 1260–1270, 1
 796 out. 2020b.
- 797
- 798 SANSEVERINO, I. *et al.* **State of the Art on the Contribution of Water to**
 799 **Antimicrobial Resistance**. Luxembourg: [s.n.].
- 800
- 801 SANTOS, D. M. S. *et al.* *Salmonella* em carcaças de frango congeladas.
 802 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 39–42, mar. 2000.
- 803
- 804 TALUKDER, H. *et al.* Prevalence and Antimicrobial Resistance Profile of
 805 *Salmonella* Isolated from Human, Animal and Environment Samples in South
 806 Asia: A 10-Year Meta-analysis. **Journal of Epidemiology and Global Health**, v.
 807 13, n. 4, p. 637–652, 26 out. 2023.
- 808
- 809 TIBA-CASAS, M. R. *et al.* Emergence of CMY-2-Producing *Salmonella*
 810 Heidelberg Associated with IncI1 Plasmids Isolated from Poultry in Brazil.
 811 **Microbial Drug Resistance**, v. 25, n. 2, p. 271–276, mar. 2019.

- 812 VAN DUIN, D.; PATERSON, D. L. Multidrug-Resistant Bacteria in the
813 Community. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 2, p. 377–
814 390, jun. 2016.
- 815
- 816 VAN VEEN, H. W. *et al.* A bacterial antibiotic-resistance gene that complements
817 the human multidrug-resistance P-glycoprotein gene. **Nature**, v. 391, n. 6664, p.
818 291–295, jan. 1998.
- 819
- 820 VON NUSSBAUM, F. *et al.* Antibacterial Natural Products in Medicinal
821 Chemistry—Exodus or Revival? **Angewandte Chemie International Edition**, v.
822 45, n. 31, p. 5072–5129, 4 ago. 2006.
- 823
- 824 VOSS-RECH, D. *et al.* Longitudinal study reveals persistent environmental
825 *Salmonella* Heidelberg in Brazilian broiler farms. **Veterinary Microbiology**, v.
826 233, p. 118–123, jun. 2019.
- 827
- 828 WALSH, C. **Antibiotics: actions, origins, resistance**. Washington: American
829 Society for Microbiology (ASM), 2004.
- 830
- 831 WALSH, T. R. *et al.* Antimicrobial Resistance: Addressing a Global Threat to
832 Humanity. **PLOS Medicine**, v. 20, n. 7, p. e1004264, 3 jul. 2023.
- 833
- 834 ZHONG, Y. *et al.* Application of Next Generation Sequencing in Laboratory
835 Medicine. **Annals of Laboratory Medicine**, v. 41, n. 1, p. 25–43, 1 jan. 2021.
- 836
- 837 ZISHIRI, O. T.; MKHIZE, N.; MUKARATIRWA, S. Prevalence of virulence and
838 antimicrobial resistance genes in *Salmonella* spp. isolated from commercial
839 chickens and human clinical isolates from South Africa and Brazil.
840 **Onderstepoort J Vet Res**, v. 83, n. 1, 9 mar. 2016.

CAPÍTULO 2

Artigo 1:

841 **Resistoma de isolados *Salmonella* spp. obtidos de carcaças e cortes de**
842 **frango: uma análise temporal de 2004 a 2020.**

Artigo a ser traduzido e enviado para a revista *Antibiotics* – ISSN: 2079-6382

Resistoma de isolados Salmonella spp. obtidos de carcaças e cortes de frango: uma análise temporal de 2004 a 2020.

843 Evelyn Fernanda Flores Caron^{1*}, Aryele Nunes da Cruz Encide Sampaio¹,
844 Camila Koutsodontis Cerqueira-Cézar¹, Evelyn Cristine da Silva¹ Fábio Sossai
845 Possebon^{1,2}, Juliano Gonçalves Pereira¹.

846

847 ¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista
848 "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), 18618-681, Botucatu, SP, Brasil.

849 ²Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP). Instituto de
850 Biotecnologia (IBTEC) – Botucatu, SP, Brasil.

851 *autor correspondente E-mail: evelyn.fernanda@unesp.br

Resumo

Diversas espécies de *Salmonella* têm sido identificadas como multirresistentes nos últimos anos, com vários genes de resistência antimicrobiana detectados por meio de técnicas moleculares. O perfil de resistência aos antibióticos da *Salmonella* é dinâmico, variando ao longo do tempo, o que destaca a necessidade de monitoramento contínuo para o controle de bactérias multirresistentes — um desafio significativo para a medicina moderna. Vinte e oito isolados de carcaças e cortes de frango, coletados em dois períodos (2004–2006 e 2019–2020), foram previamente caracterizados fenotipicamente pelo método de difusão em disco e analisados por Sequenciamento de Nova Geração (NGS) para determinar seus perfis genotípicos. O objetivo foi avaliar possíveis diferenças genéticas entre os isolados de diferentes períodos. Entre os 12 isolados do primeiro período ("antigos"), o sorovar *Salmonella* Enteritidis foi o mais prevalente. Apenas dois isolados apresentaram resistência fenotípica à estreptomicina, mas vários genes de resistência foram identificados, incluindo *ampC1*, *ampH*, *PBP3*, *TEM-60*, *TER-1*, *AAC(6')-ly* e *gyrA*. Nos 16 isolados do segundo período ("novos"), o sorovar *Salmonella* Heidelberg predominou. Somente um isolado foi fenotipicamente sensível a todos os antibióticos testados. As resistências mais frequentes foram para tetraciclina (87,5%), seguidas por ceftazidime, cefoxitina e ampicilina (75%), estreptomicina (18,75%) e imipeném, ciprofloxacino e cloranfenicol (6,25%). O perfil genotípico desses isolados foi mais diverso, com genes de resistência como *blaCMY-2*, *CMY-2*, *CMY-99*, *CMY-102*, *TLA-2*, *AAC(6')-ly*, *aadA*, *aph(3')-Ia*, *AAC(6')-Iaa*, *qnrB19*, *sul2*, *floR* e *tet(A)* identificados, além daqueles encontrados nos isolados mais antigos. Os resultados demonstram um aumento na resistência multirresistente ao longo do tempo, enfatizando a necessidade de monitoramento contínuo da *Salmonella* multirresistente em alimentos.

ABSTRACT

Several species of *Salmonella* have been identified as multidrug-resistant in recent years, with various antimicrobial resistance genes detected through molecular techniques. The antibiotic resistance profile in *Salmonella* is dynamic, varying over time, which highlights the need for continuous monitoring to control multidrug-resistant bacteria—a significant challenge in modern medicine. Twenty-eight isolates from chicken carcasses and cuts, collected at two intervals (2004–2006 and 2019–2020), were previously characterized phenotypically using the disk diffusion method and analyzed by Next-Generation Sequencing (NGS) to determine their genotypic profiles. The goal was to evaluate potential genetic differences between isolates from different time periods. Among the 12 isolates from the first interval ("old"), *Salmonella* Enteritidis was the most prevalent. Only two isolates exhibited phenotypic resistance to streptomycin, but several resistance genes were identified, including *ampC1*, *ampH*, *PBP3*, *TEM-60*, *TER-1*, *AAC(6')-Iy*, and *gyrA*. For the 16 isolates from the second interval ("new"), *Salmonella* Heidelberg predominated. Only one isolate was phenotypically sensitive to all tested antibiotics. The most frequent resistances were to tetracycline (87.5%), followed by ceftazidime, cefoxitin, and ampicillin (75%), streptomycin (18.75%), and imipenem, ciprofloxacin, and chloramphenicol (6.25%). The genotypic profile of these isolates was more diverse, with resistance genes such as *blaCMY-2*, *CMY-2*, *CMY-99*, *CMY-102*, *TLA-2*, *AAC(6')-Iy*, *aadA*, *aph(3')-Ia*, *AAC(6')-Iaa*, *qnrB19*, *sul2*, *floR*, and *tet(A)* identified in addition to those found in the older isolates. These results demonstrate an increase in multidrug resistance over time, emphasizing the need for ongoing monitoring of multidrug-resistant *Salmonella* in food.

1. Introdução

A carne de frango é uma das mais consumidas no mundo e atrativa para os consumidores por ter alta quantidade de proteína e baixos índices de gordura, além de ser mais acessível quando comparada com a carne bovina e suína. Há uma projeção de aumento de consumo global de 154 toneladas de carne de frango até 2031 (OECD-FAO, 2021). Em 2022, a produção de carne de frango no Brasil foi de 14.3 milhões de toneladas, sendo 32 % da produção destinada à exportação e 68 % para o mercado interno (ABPA, 2023). Os expressivos números de produção de carne de frango brasileira demonstram a demanda e a importância da produção animal para o agronegócio brasileiro.

Na avicultura, os agentes antimicrobianos são comumente fornecidos em doses subterapêutico, pois melhoraram a conversão alimentar dos frangos, resultando em um crescimento mais acelerado e prevenindo doenças (Van Boeckel *et al.*, 2019). No entanto, algumas décadas após a intensificação do uso dos antibióticos na produção de animais voltada ao consumo humano, bactérias de origem clínica, ambiental e de alimentos de origem animal passaram a apresentar maior resistência a diferentes classes de antibióticos (Muloi *et al.*, 2018; Woolhouse *et al.*, 2015). Apesar de não haver um consenso global, existem fortes evidências que uso terapêutico inadequado e a exposição constante a antimicrobianos na produção animal criou uma maior pressão seletiva sobre os micro-organismos (O'Neill, 2016; Scott *et al.*, 2018).

Os antibióticos comumente utilizados em tratamento de animais e humanos geram preocupação na saúde pública, com o surgimento e persistência de cepas resistentes e, conseqüentemente, a resistência aos antibióticos dentro da produção de alimentos (Gebreyes *et al.*, 2017). A presença de cepas multirresistentes têm sido identificadas em produtos de origem animal, sendo que fazendas de produção ou ambientes veterinários podem ter ocasionado o surgimento destas cepas através da utilização de antibióticos na alimentação dos animais e há a possibilidade de cuidadores de animais, fazendeiros e manipuladores de alimentos serem prováveis fontes de contaminação (Doyle, 2015). Grande número de amostras de frango positivas para patógenos alimentares, demonstraram uma alta prevalência de isolados multirresistentes a antibióticos. Tal informação reforça a necessidade de maiores cuidados na produção, transporte e armazenamento dos produtos de origem animal, mas

também evidencia a preocupação com a disseminação de bactérias resistentes na cadeia produtiva de alimentos (Da Silva *et al.*, 2018).

Salmonella spp. uma enterobactéria relacionada com surtos de doenças de origem alimentar no Brasil e no mundo, classificada como uma das zoonoses mais difundida do mundo, o controle da salmonelose representa um desafio para a saúde pública (OMS, 2018). Considerando que a principal via de transmissão de *Salmonella* spp. está na cadeia de produção de alimentos pela sua presença em animais criados com objetivo comercial, esse micro-organismo é o mais incidente e relevante agente etiológico de infecções entéricas, ocasionando perdas de milhões de dólares para a indústria, particularmente de aves, bovinos e suínos (Antunes *et al.*, 2016). O sintoma mais característico da salmonelose é uma gastroenterite com sinal predominante de diarreia autolimitante, não sendo necessária, na maioria das vezes, a terapia com antimicrobianos, com o intuito de evitar a indução à resistência ao antimicrobiano usado (CDC, 2019).

Ao longo do tempo, bactérias desenvolveram e/ou adquiriram uma grande variedade de genes ou mutações genéticas que desempenham um importante papel na resistência aos agentes antimicrobianos (Munita; Arias, 2016). Genes de resistência normalmente estão localizados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos, transposons, cassetes de genes e ilhas genômicas, e são facilmente trocados entre bactérias que vivem no mesmo habitat, como da família *Enterobacteriaceae* no trato gastrointestinal de humanos e animais (Partridge *et al.*, 2018).

Diversos sorovares de *Salmonella* spp. têm sido documentadas como multirresistentes nos últimos anos e diferentes genes de resistência antimicrobiana tem sido identificado por técnicas moleculares (Lyu *et al.*, 2021). No gênero *Salmonella* spp., genes que codificam mecanismos de multirresistência localizam-se na Ilha Genômica 1 de *Salmonella* (*Salmonella* Genomic Island 1 – SGI-1), que pode ser transferida por meio de conjugação entre distintos sorovares de *Salmonella* e entre *Salmonella* e *Escherichia coli*, demonstrando sua facilidade de disseminação (Doublet *et al.*, 2005). Evidências apontam que as ilhas genômicas são importantes na evolução destas bactérias, influenciando traços como simbiose, resistência aos antibióticos e adaptação em geral (Fortes *et al.*, 2012).

A resistência aos antimicrobianos ocorre quando micro-organismos, uma vez expostos ao estresse dos mesmos, mutam ou adquirem genes de resistência como uma maneira de manter-se para perpetuação frente à pressão seletiva provocada (Ferreira; Terra Júnior, 2018).

O perfil de resistência aos antibióticos em isolados de *Salmonella* spp. e outras bactérias pode ser dinâmico, ou seja, o perfil de isolados de décadas atrás pode não ser o mesmo de isolados obtidos em tempos atuais; assim o estudo dos elementos envolvidos nessa dinâmica é imprescindível para esse mecanismo, a fim de obter um melhor planejamento do enfrentamento de bactérias multirresistentes, que é um dos maiores desafios para a medicina atualmente (Founou *et al.*, 2016). O impacto que a emergência e disseminação da resistência aos antibióticos representa para a saúde animal e humana é de nível global, já que desfechos adversos ocorrem em pacientes infectados por micro-organismos resistentes (Robinson *et al.*, 2016).

À proporção que o uso dos antimicrobianos fica mais difundido, a resistência das bactérias também se torna mais notável. Fatores que favorecem o surgimento da resistência, são relacionados a utilização irresponsável do fármaco em humanos, seja por tratamento interrompido precocemente ou o emprego em casos desnecessários. As precárias condições sanitárias, o manuseio inadequado dos alimentos, a utilização de antibióticos para prevenir doenças em animais saudáveis e como promotores de crescimento em animais, também contribuem para a disseminação de bactérias que possuem genes com resistência na cadeia produtiva animal (WHO, 2020).

Este estudo investigou as diferenças no perfil genotípico de isolados de *Salmonella* spp. obtidos de carcaças e cortes de frango entre 2004 – 2020, com foco na detecção de genes de resistência antimicrobiana. Considerando o papel do Brasil como um dos maiores exportadores de carne de frango, a importância de *Salmonella* spp. como agente de doenças transmitidas por alimentos e a crescente preocupação com a emergência da multirresistência antimicrobiana.

Referências:

ABDEL-KADER, F. *et al.* Retail chicken giblets contaminated with extended-spectrum cephalosporin- and carbapenem-resistant *Salmonella* enterica carrying blaCMY-2. **Veterinary World**, p. 1297–1304, 25 maio 2022.

ABPA, A. B. DE P. A. **Relatório Anual 2023**. São Paulo, Brasil.: [s.n.].
Disponível em: <<https://abpa-br.org>>. Acesso em: 17 nov. 2024.

AHMED, A. M.; SHIMAMOTO, T. Genetic analysis of multiple antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from diseased broilers in Egypt. **Microbiology and Immunology**, v. 56, n. 4, p. 254–261, 16 abr. 2012.

ANTUNES, P. *et al.* Salmonellosis: the role of poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 2, p. 110–121, fev. 2016.

BACCI, C. *et al.* Phenotypic and genotypic features of antibiotic resistance in *Salmonella* enterica isolated from chicken meat and chicken and quail carcasses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 160, n. 1, p. 16–23, nov. 2012.

BAJPAI, T. *et al.* Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M Beta-Lactamase genes in the urinary isolates of a tertiary care hospital. **Avicenna Journal of Medicine**, v. 07, n. 01, p. 12–16, 9 jan. 2017.

BLAKE, K. S. *et al.* Sequence-structure-function characterization of the emerging tetracycline destructase family of antibiotic resistance enzymes. **Communications Biology**, v. 7, n. 1, p. 336, 16 mar. 2024.

BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, 1 ago. 2014.

BRAIBANT, M. *et al.* Structural and Functional Study of the Phenicol-Specific Efflux Pump FloR Belonging to the Major Facilitator Superfamily. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 7, p. 2965–2971, jul. 2005.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 26, DE 9 DE JULHO DE 2009 - Regulamento Técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a

- 1782 **comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso**
 1783 **veterinário.** BrasíliaDiário Oficial da União, , 10 jul. 2009.
- 1784
- 1785 BRINDANI, F. *et al.* Presence of marRAB Operon in *Salmonella* spp. Strains
 1786 Isolated from Pork and Poultry Meat. **Veterinary Research Communications**,
 1787 v. 30, n. S1, p. 341–343, ago. 2006.
- 1788
- 1789 BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated Functional Classification of β -Lactamases.
 1790 **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969–976, mar. 2010.
- 1791
- 1792 CAPORALE, B. *et al.* Biochemical Characterization of Laboratory Mutants of
 1793 Extended-Spectrum β -Lactamase TEM-60. **Antimicrobial Agents and**
 1794 **Chemotherapy**, v. 48, n. 9, p. 3579–3582, set. 2004.
- 1795
- 1796 CARD, C. A. R. DATABASE. **CMY-102.**
- 1797
- 1798 CARD, C. A. R. DATABASE. **TER-1.**
- 1799
- 1800 CDC. **Antibiotic resistance threats in the United States.** Centers for Disease
 1801 Control and Prevention, , 2013.
- 1802
- 1803 COIL, D.; JOSPIN, G.; DARLING, A. E. A5-miseq: an updated pipeline to
 1804 assemble microbial genomes from Illumina MiSeq data. **Bioinformatics**, v. 31,
 1805 n. 4, p. 587–589, 15 fev. 2015.
- 1806
- 1807 DA SILVA, A. C. *et al.* RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Salmonella* spp.,
 1808 *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli* ISOLADOS DE CARCAÇAS DE
 1809 FRANGOS: RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS E ÓLEOS ESSENCIAIS. **Revista**
 1810 **Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 1, 13 jun. 2018.
- 1811
- 1812 DIONISI, A. M. *et al.* Characterization of the Plasmid-Borne Quinolone
 1813 Resistance Gene *qnrB19* in *S almonella enterica* Serovar Typhimurium.
 1814 **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 9, p. 4019–4021, set. 2009.
- 1815
- 1816 DOUBLET, B. *et al.* Plasmid-mediated florfenicol and ceftriaxone resistance
 1817 encoded by the floR and blaCMY-2 genes in *Salmonella enterica* serovars

- 1818 Typhimurium and Newport isolated in the United States. **FEMS Microbiology**
1819 **Letters**, v. 233, n. 2, p. 301–305, 15 abr. 2004.
- 1820
- 1821 DOUBLET, B. *et al.* The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable
1822 element. **Molecular Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 1911–1924, mar. 2005.
- 1823
- 1824 DOYLE, M. E. Multidrug-Resistant Pathogens in the Food Supply. **Foodborne**
1825 **Pathogens and Disease**, v. 12, n. 4, p. 261–279, abr. 2015.
- 1826
- 1827 ELIOPOULOS, G. M.; HUOVINEN, P. Resistance to Trimethoprim-
1828 Sulfamethoxazole. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 11, p. 1608–1614, 1
1829 jun. 2001.
- 1830
- 1831 FÀBREGA, A. *et al.* Mechanism of action of and resistance to quinolones.
1832 **Microbial Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 40–61, 22 jan. 2009.
- 1833
- 1834 FERREIRA, R. L.; TERRA JÚNIOR, A. T. ESTUDO SOBRE A
1835 AUTOMEDICAÇÃO, O USO IRRACIONAL DE MEDICAMENTOS E O PAPEL
1836 DO FARMACÊUTICO NA SUA PREVENÇÃO. **Revista Científica FAEMA**, v. 9,
1837 n. edesp, p. 570–576, 15 jun. 2018.
- 1838
- 1839 FLORENSA, A. F. *et al.* ResFinder – an open online resource for identification of
1840 antimicrobial resistance genes in next-generation sequencing data and prediction
1841 of phenotypes from genotypes. **Microbial Genomics**, v. 8, n. 1, 17 jan. 2022.
- 1842
- 1843 FORTES, T. P. , *et al.* Ilhas de patogenicidade de *Salmonella* enterica: uma
1844 revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 2, p. 219–227, 1 fev. 2012.
- 1845
- 1846 FOUNOU, L. L.; FOUNOU, R. C.; ESSACK, S. Y. Antibiotic Resistance in the
1847 Food Chain: A Developing Country-Perspective. **Frontiers in Microbiology**, v.
1848 7, 23 nov. 2016.
- 1849
- 1850 GEBREYES, W. A. *et al.* Spread of Antibiotic Resistance in Food Animal
1851 Production Systems. Em: **Foodborne Diseases**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 105–
1852 130.

- 1853 GIRLICH, D. *et al.* TLA-2, a Novel Ambler Class A Expanded-Spectrum β -
1854 Lactamase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 11, p. 4767–
1855 4770, nov. 2005.
- 1856
- 1857 GUINEY, D. G.; FIERER, J. The Role of the *spv* Genes in *Salmonella*
1858 Pathogenesis. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, 2011.
- 1859
- 1860 HENDERSON, T. A. *et al.* AmpC and AmpH, proteins related to the class C beta-
1861 lactamases, bind penicillin and contribute to the normal morphology of
1862 *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**, v. 179, n. 19, p. 6112–6121, out.
1863 1997.
- 1864
- 1865 HUR, J. *et al.* Molecular and virulence characteristics of multi-drug resistant
1866 *Salmonella* Enteritidis strains isolated from poultry. **The Veterinary Journal**, v.
1867 189, n. 3, p. 306–311, set. 2011.
- 1868
- 1869 JACOBY, G. A. Mechanisms of Resistance to Quinolones. **Clinical Infectious**
1870 **Diseases**, v. 41, n. Supplement_2, p. S120–S126, 15 jul. 2005.
- 1871
- 1872 JACOBY, G. A. AmpC β -Lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 22, n.
1873 1, p. 161–182, jan. 2009.
- 1874
- 1875 JOHARI, M. I. *et al.* Disseminated *Salmonella* infection. **BMJ Case Reports**, v.
1876 12, n. 5, p. e226337, 9 maio 2019.
- 1877
- 1878 JORIS, B. *et al.* Comparison of the sequences of class A beta-lactamases and of
1879 the secondary structure elements of penicillin-recognizing proteins.
1880 **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 35, n. 11, p. 2294–2301, nov.
1881 1991.
- 1882
- 1883 KNOX, J. R.; MOEWS, P. C.; FRERE, J.-M. Molecular evolution of bacterial β -
1884 lactam resistance. **Chemistry & Biology**, v. 3, n. 11, p. 937–947, 1996.
- 1885
- 1886 KUMAR, M. *et al.* Futuristic Non-antibiotic Therapies to Combat Antibiotic
1887 Resistance: A Review. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 26 jan. 2021.

- 1888 LENHARD-VIDAL, A. *et al.* **High prevalence rate of extended-spectrum beta-**
 1889 **lactamases (ESBL) among Enterobacteriaceae in a small Brazilian public**
 1890 **hospital**Article **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** [s.l: s.n.].
- 1891
- 1892 LI, X.-Z. Quinolone resistance in bacteria: emphasis on plasmid-mediated
 1893 mechanisms. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, n. 6, p.
 1894 453–463, jun. 2005.
- 1895
- 1896 LYU, N. *et al.* Genomic Characterization of *Salmonella* enterica Isolates From
 1897 Retail Meat in Beijing, China. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 7 abr. 2021.
- 1898
- 1899 MAGIORAKOS, A. P. *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and
 1900 pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard
 1901 definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18,
 1902 n. 3, p. 268–281, 2012.
- 1903
- 1904 MAGNET, S.; COURVALIN, P.; LAMBERT, T. Activation of the Cryptic aac(6')-ly
 1905 Aminoglycoside Resistance Gene of *Salmonella* by a Chromosomal Deletion
 1906 Generating a Transcriptional Fusion. **Journal of Bacteriology**, v. 181, n. 21, p.
 1907 6650–6655, nov. 1999.
- 1908
- 1909 MCDERMOTT, P. F. *et al.* Whole-Genome Sequencing for Detecting
 1910 Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal *Salmonella*. **Antimicrobial Agents**
 1911 **and Chemotherapy**, v. 60, n. 9, p. 5515–5520, set. 2016.
- 1912
- 1913 MCDERMOTT, P. F.; ZHAO, S.; TATE, H. Antimicrobial Resistance in
 1914 Nontyphoidal *Salmonella*. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 4, 27 jul. 2018.
- 1915
- 1916 MICHAEL, G. B.; SCHWARZ, S. Antimicrobial resistance in zoonotic
 1917 nontyphoidal *Salmonella*: an alarming trend? **Clinical Microbiology and**
 1918 **Infection**, v. 22, n. 12, p. 968–974, dez. 2016a.
- 1919
- 1920 MICHAEL, G. B.; SCHWARZ, S. **Antimicrobial resistance in zoonotic**
 1921 **nontyphoidal *Salmonella*: an alarming trend? Clinical Microbiology and**
 1922 **Infection**Elsevier B.V., , 1 dez. 2016b.

- 1923 MULOI, D. *et al.* Are Food Animals Responsible for Transfer of Antimicrobial-
 1924 Resistant *Escherichia coli* or Their Resistance Determinants to Human
 1925 Populations? A Systematic Review. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15,
 1926 n. 8, p. 467–474, ago. 2018.
- 1927
- 1928 MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of Antibiotic Resistance.
 1929 **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 2, 25 mar. 2016.
- 1930
- 1931 OECD-FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030**. [s.l.] OECD, 2021.
- 1932
- 1933 OMS, O. M. DA S. ***Salmonella* (non-typhoidal)**.
- 1934
- 1935 O'NEILL, J. **Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and**
 1936 **Recommendations**.
- 1937
- 1938 PAO, S. S.; PAULSEN, I. T.; SAIER, M. H. Major Facilitator Superfamily.
 1939 **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 1, p. 1–34, mar. 1998.
- 1940
- 1941 PARK, S. E. *et al.* The genomic epidemiology of multi-drug resistant invasive non-
 1942 typhoidal *Salmonella* in selected sub-Saharan African countries. **BMJ Global**
 1943 **Health**, v. 6, n. 8, p. e005659, ago. 2021.
- 1944
- 1945 PARRA-FLORES, J. *et al.* Genomic Characterization of Cronobacter spp. and
 1946 *Salmonella* spp. Strains Isolated From Powdered Infant Formula in Chile.
 1947 **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2 jun. 2022.
- 1948
- 1949 PARTRIDGE, S. R. *et al.* Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial
 1950 Resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, out. 2018.
- 1951
- 1952 POIREL, L. *et al.* In Vivo Selection of Fluoroquinolone-Resistant *Escherichia coli*
 1953 Isolates Expressing Plasmid-Mediated Quinolone Resistance and Expanded-
 1954 Spectrum β -Lactamase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 4,
 1955 p. 1525–1527, abr. 2006.

- 1956 REDGRAVE, L. S. *et al.* Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on
1957 bacteria, and role in evolutionary success. **Trends in Microbiology**, v. 22, n. 8,
1958 p. 438–445, ago. 2014.
- 1959
- 1960 ROBERTS, M. C. Update on acquired tetracycline resistance genes. **FEMS**
1961 **Microbiology Letters**, v. 245, n. 2, p. 195–203, abr. 2005.
- 1962
- 1963 ROBICSEK, A.; JACOBY, G. A.; HOOPER, D. C. The worldwide emergence of
1964 plasmid-mediated quinolone resistance. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 6,
1965 n. 10, p. 629–640, out. 2006.
- 1966
- 1967 ROBINSON, T. P. *et al.* Antibiotic resistance is the quintessential One Health
1968 issue. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**,
1969 v. 110, n. 7, p. 377–380, jul. 2016.
- 1970
- 1971 RODRIGUES, G. L. *et al.* Frequency of Antimicrobial Resistance Genes in
1972 *Salmonella* From Brazil by in silico Whole-Genome Sequencing Analysis: An
1973 Overview of the Last Four Decades. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 7 ago.
1974 2020.
- 1975
- 1976 SAUVAGE, E. *et al.* The penicillin-binding proteins: structure and role in
1977 peptidoglycan biosynthesis. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 234–
1978 258, mar. 2008.
- 1979
- 1980 SCHNEIDER, I. *et al.* Detection of CMY-99, a Novel Acquired AmpC-Type β -
1981 Lactamase, and VIM-1 in *Proteus mirabilis* Isolates in Bulgaria. **Antimicrobial**
1982 **Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 1, p. 620–621, jan. 2014.
- 1983
- 1984 SCOTT, A. M. *et al.* **Is antimicrobial administration to food animals a direct**
1985 **threat to human health? A rapid systematic review.** **International Journal of**
1986 **Antimicrobial Agents** Elsevier B.V., , 1 set. 2018.
- 1987
- 1988 SERPERSU, E. H.; ÖZEN, C.; WRIGHT, E. Studies of Enzymes That Cause
1989 Resistance to Aminoglycosides Antibiotics. Em: [s.l: s.n.]. p. 261–271.
- 1990
- 1991 SKÖLD, O. Resistance to trimethoprim and sulfonamides. **Veterinary Research**,
1992 v. 32, n. 3/4, p. 261–273, maio 2001.

- 1993 SUN, S.; SELMER, M.; ANDERSSON, D. I. Resistance to β -Lactam Antibiotics
 1994 Conferred by Point Mutations in Penicillin-Binding Proteins PBP3, PBP4 and
 1995 PBP6 in *Salmonella enterica*. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, p. e97202, 8 maio 2014.
- 1996
- 1997 SUNDIN, G. W.; BENDER, C. L. Dissemination of the *strA-strB* streptomycin-
 1998 resistance genes among commensal and pathogenic bacteria from humans,
 1999 animals, and plants. **Molecular Ecology**, v. 5, n. 1, p. 133–143, 28 fev. 1996.
- 2000
- 2001 TEKLEMARIAM, A. D. *et al.* Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat
 2002 in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. **Foods**, v. 12, n. 9, p. 1756, 23 abr.
 2003 2023a.
- 2004
- 2005 TEKLEMARIAM, A. D. *et al.* Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat
 2006 in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. **Foods**, v. 12, n. 9, p. 1756, 23 abr.
 2007 2023b.
- 2008
- 2009 TYSON, G. H. *et al.* Using whole-genome sequencing to determine appropriate
 2010 streptomycin epidemiological cutoffs for *Salmonella* and *Escherichia coli*. **FEMS**
 2011 **Microbiology Letters**, v. 363, n. 4, p. fnw009, fev. 2016.
- 2012
- 2013 URBACH, C.; FASTREZ, J.; SOUMILLION, P. A New Family of Cyanobacterial
 2014 Penicillin-binding Proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 47, p.
 2015 32516–32526, nov. 2008.
- 2016
- 2017 VAN BOECKEL, T. P. *et al.* Global trends in antimicrobial use in food animals.
 2018 **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of**
 2019 **America**, v. 112, n. 18, p. 5649–5654, 5 maio 2015.
- 2020
- 2021 VAN BOECKEL, T. P. *et al.* Global trends in antimicrobial resistance in animals
 2022 in low- And middle-income countries. **Science**, v. 365, n. 6459, 20 set. 2019.
- 2023
- 2024 WHO. **Antimicrobial resistance 2020.**
- 2025
- 2026 WINOKUR, P. L. *et al.* **Animal and Human Multidrug-Resistant,**
 2027 **Cephalosporin-Resistant *Salmonella* Isolates Expressing a Plasmid-**
 2028 **Mediated CMY-2 AmpC-Lactamase.** [s.l: s.n.].

- 2029 WOOLHOUSE, M. *et al.* Antimicrobial resistance in humans, livestock and the
2030 wider environment. **Philosophical Transactions of the Royal Society B:**
2031 **Biological Sciences**, v. 370, n. 1670, p. 20140083, 5 jun. 2015.
- 2032
- 2033 ZHOU, Q. *et al.* Detection of AmpC β -lactamases in gram-negative bacteria.
2034 **Heliyon**, v. 8, n. 12, p. e12245, dez. 2022.

Artigo 2:

Sensibilidade à colistina em *Salmonella* Bredeney e *Salmonella* Heidelberg positivos para a presença do gene *MCR-9.1* isolados com quinze anos de diferença

Artigo a ser traduzido e enviado para a revista Antibiotics – ISSN: 2079-6382

2035 ***Sensibilidade à colistina em Salmonella Bredeney e Salmonella Heidelberg***
2036 ***positivos para a presença do gene MCR-9.1 isolados com quinze anos de***
2037 ***diferença***

2038

2039 Evelyn Fernanda Flores Caron^{1*}, Camila Koutsodontis Cerqueira-Cézar¹,
2040 Aryele Nunes da Cruz Encide Sampaio¹, Fábio Sossai Possebon^{1,2}, Juliano
2041 Gonçalves Pereira¹.

2042

2043 ¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual
2044 Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), 18618-681, Botucatu, SP, Brasil.

2045 ²Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP). Instituto de
2046 Biotecnologia (IBTEC) – Botucatu, SP, Brasil.

2047 *autor correspondente E-mail: evelyn.fernanda@unesp.br

Resumo

A colistina, amplamente utilizada na medicina veterinária e como promotora de crescimento em animais, é um antimicrobiano de última linha na medicina humana. Apesar de inicialmente se acreditar que a resistência à colistina era exclusivamente cromossômica, a descoberta do gene plasmidial *mcr-1* em 2015 destacou a emergência de resistência transferível. Desde então, variantes do gene *mcr* foram descobertas em diversas enterobactérias, incluindo *Salmonella* spp., um patógeno amplamente associado à cadeia alimentar. Este estudo investigou a presença de genes de resistência em 28 isolados de *Salmonella* spp. de carcaças e cortes de frango obtidos entre 2004 e 2020, utilizando sequenciamento de genoma completo (NGS) e realizou a análise fenotípica de sensibilidade à colistina. O gene *mcr-9.1* foi identificado em dois isolados de anos distintos: *Salmonella* Bredeney (2004) e *Salmonella* Heidelberg (2019), ambos sensíveis à colistina no teste fenotípico. A detecção de *mcr-9.1* em um isolado anterior à sua primeira descrição formal (2019) sugere que sua disseminação pode ter ocorrido antes da identificação inicial. Este achado ressalta a relevância do NGS como ferramenta para vigilância e monitoramento da resistência antimicrobiana, permitindo identificar variantes emergentes e entender sua evolução temporal. Embora o *mcr-9.1* não esteja diretamente associado à resistência fenotípica à colistina, sua presença em *Salmonella* spp. obtida de produtos de origem animal destinados a alimentação humana levanta preocupações sobre o potencial de disseminação de genes de resistência por plasmídeos. Este estudo reforça a necessidade de monitoramento contínuo da resistência antimicrobiana para mitigar os riscos à saúde pública e à segurança alimentar.

Palavras-chave: colistina, *Salmonella* spp., resistência antimicrobiana, *mcr-9.1*, NGS.

ABSTRACT

Colistin, widely used in veterinary medicine and as a growth promoter in animals, is also considered a last-resort antimicrobial in human medicine. Initially thought to be associated exclusively with chromosomal resistance, the discovery of the plasmid-mediated *mcr-1* gene in 2015 marked the emergence of transferable resistance. Since then, *mcr* gene variants have been identified in various Enterobacteriaceae, including *Salmonella* spp., a pathogen closely linked to the food chain. This study investigated the presence of resistance genes in 28 *Salmonella* spp. isolates from chicken carcasses and cuts collected between 2004 and 2020 using whole-genome sequencing (NGS) and phenotypic colistin susceptibility testing according to established guidelines. The *mcr-9.1* gene was detected in two isolates from different years: *Salmonella* Bredeney (2004) and *Salmonella* Heidelberg (2019), both phenotypically susceptible to colistin. The detection of *mcr-9.1* in an isolate prior to its first formal description (2019) suggests that its dissemination may have occurred earlier than originally identified. This finding underscores the importance of NGS as a tool for antimicrobial resistance surveillance and monitoring, enabling the detection of emerging variants and understanding their temporal evolution. Although *mcr-9.1* is not directly linked to phenotypic colistin resistance, its presence in *Salmonella* spp. isolated from animal-derived food products highlights the potential risk of plasmid-mediated resistance dissemination. This study reinforces the need for continuous antimicrobial resistance monitoring to mitigate risks to public health and food safety.

Keywords: colistin, *Salmonella* spp., antimicrobial resistance, *mcr-9.1*, NGS.

1. Introdução

A colistina, um antimicrobiano da classe das polimixinas, é produzida pela bactéria Gram-positiva *Paenibacillus polymyxa* subespécie *colistinus*. Essa classe abrange cinco tipos de polimixinas (A, B, C, D e E), sendo a polimixina E (colistina) e a polimixina B as principais de aplicação clínica, com a colistina destacando-se como a mais utilizada (Bergen; Li; Nation, 2011; Falagas; Kasiakou; Saravolatz, 2005).

Na medicina humana, o uso das polimixinas foi amplamente descontinuado na década de 1960 devido a seus efeitos adversos, como nefrotoxicidade, e à introdução de antibióticos de outras classes, considerados mais seguros. No entanto, com o surgimento de infecções causadas por bactérias multirresistentes, as polimixinas retornaram à prática clínica como uma das últimas opções terapêuticas. Apesar disso, seu potencial nefrotóxico frequentemente leva à administração de doses subterapêuticas, comprometendo a eficácia ideal (Nation *et al.*, 2019). Na medicina veterinária, por outro lado, a colistina tem sido amplamente empregada por décadas, tanto no tratamento e prevenção de doenças infecciosas quanto como promotor de crescimento em animais de produção. Embora seu uso intensivo em animais tenha perdurado por mais de 50 anos, ainda há escassez de dados sobre a resistência à colistina nesse contexto, especialmente quando comparado à medicina humana (Liu; Liu, 2018).

Até 2016, acreditava-se que a resistência às polimixinas era mediada exclusivamente por mutações cromossômicas. No entanto, a descoberta do gene plasmidial *mcr-1* em isolados de *Escherichia coli* de origem animal na China revelou um novo mecanismo de resistência, com potencial de transmissão horizontal entre diferentes espécies bacterianas. Essa descoberta alarmante ressaltou o risco de disseminação rápida da resistência à colistina (Liu *et al.*, 2016). Desde então, o gene *mcr-1* tem sido identificado em várias enterobactérias, como *Klebsiella pneumoniae* (Stoesser *et al.* 2016), *Shigella sonnei* (Pham Thanh *et al.*, 2016) e em diferentes sorovares de *Salmonella* spp. (Campos *et al.*, 2016).

Atualmente, dez variantes do gene *mcr* foram identificadas, numeradas de *mcr-1* a *mcr-10*. Todas essas variantes compartilham o mesmo mecanismo de ação, que envolve a modificação do lipopolissacarídeo (LPS) da membrana

bacteriana, inibindo a ligação da colistina e, assim, conferindo resistência ao antimicrobiano (Valiakos; Kapna, 2021). As variantes do gene *mcr* têm sido comumente detectadas em isolados de *Salmonella* spp., como observado nas variantes *mcr-4.1* a *mcr-4.6*, identificadas em *Salmonella Typhimurium* de suínos na Espanha, Itália e Bélgica (Carattoli et al., 2017), enquanto *mcr-5.1* a *mcr-5.4* foram detectadas em *Salmonella* Paratyphi B de aves na Alemanha (Borowiak et al., 2017). A variante *mcr-9*, por sua vez, foi detectada em *Salmonella Typhimurium* de um paciente nos Estados Unidos (Carroll et al., 2019).

A presença desse gene de resistência em *Salmonella* é especialmente preocupante, pois trata-se de um patógeno que pode ser transmitido por alimentos, o que levanta questões de que bactérias resistentes possam estar se disseminando através da cadeia alimentar (Webb et al., 2016). Além disso, o contínuo desenvolvimento da resistência à colistina agrava o cenário de tratamento de infecções bacterianas multirresistentes, tornando-o cada vez mais desafiador (CDC, 2016). Neste contexto, a detecção de genes de resistência em isolados de *Salmonella* obtidos de alimentos amplamente consumidos, como a carne de frango, e de diferentes períodos, pode fornecer informações valiosas sobre a evolução e disseminação de resistência antimicrobiana. O presente estudo teve como objetivo detectar genes de resistência em isolados de *Salmonella* provenientes de carcaças e cortes de frango de períodos distintos (2004 - 2020), utilizando o sequenciamento de genoma completo (Next Generation Sequencing - NGS). Além do NGS, foi realizado o perfil fenotípico de resistência à colistina em isolados positivos, utilizando o Teste de Ágar com Colistina, de acordo com as recomendações do CLSI. Esses dados são essenciais para embasar a adoção de práticas mais seguras e sustentáveis, visando mitigar a propagação da resistência, proteger a saúde pública e garantir a segurança alimentar ao longo da cadeia produtiva.

2. Material e métodos

2.2 Origem dos isolados de *Salmonella* spp.

Foram utilizados 28 isolados de *Salmonella* spp., obtidos de carcaças e cortes de frango, entre os anos de 2004 e 2020. Destes, 7 isolados foram obtidos de amostras coletadas em 2004, 2 em 2005 e 3 em 2006, denominados "antigos" (n=12). Os outros 16 isolados foram obtidos em 2019 (n=8) e 2020 (n=8),

2383 **Referências**

- 2384 ABPA, A. B. DE P. A. **Relatório Anual 2023**. São Paulo, Brasil.: [s.n.]. Disponível
2385 em: <<https://abpa-br.org>>. Acesso em: 17 nov. 2024.
- 2386
- 2387 BEHERA, B. *et al.* Evaluation of susceptibility testing methods for polymyxin.
2388 **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 7, p. e596–e601, jul.
2389 2010.
- 2390
- 2391 BERGEN, P. J.; LI, J.; NATION, R. L. Dosing of colistin—back to basic PK/PD.
2392 **Current Opinion in Pharmacology**, v. 11, n. 5, p. 464–469, out. 2011.
- 2393
- 2394 BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for
2395 Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, 1 ago. 2014.
- 2396
- 2397 BOROWIAK, M. *et al.* Identification of a novel transposon-associated
2398 phosphoethanolamine transferase gene, mcr-5, conferring colistin resistance in
2399 d-tartrate fermenting *Salmonella* enterica subsp. enterica serovar Paratyphi B.
2400 **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 12, p. 3317–3324, 1 dez.
2401 2017.
- 2402
- 2403 CAMPOS, J. *et al.* MCR-1 in multidrug-resistant and copper-tolerant clinically
2404 relevant *Salmonella* 1,4,[5],12:i:- and S. Rissen clones in Portugal, 2011 to 2015.
2405 **Eurosurveillance**, v. 21, n. 26, 30 jun. 2016.
- 2406
- 2407 CARATTOLI, A. *et al.* Novel plasmid-mediated colistin resistance mcr-4 gene in
2408 *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016.
2409 **Eurosurveillance**, v. 22, n. 31, 3 ago. 2017.
- 2410
- 2411 CARROLL, L. M. *et al.* Identification of Novel Mobilized Colistin Resistance Gene
2412 *mcr-9* in a Multidrug-Resistant, Colistin-Susceptible *Salmonella* enterica
2413 Serotype Typhimurium Isolate. **mBio**, v. 10, n. 3, 25 jun. 2019.
- 2414
- 2415 CDC, C. FOR D. C. AND P. **Newly reported gene, mcr-1, threatens last-resort**
2416 **antibiotics**. Disponível em:
2417 <<https://archive.cdc.gov/#/details?url=https://www.cdc.gov/drugresistance/solutions-initiative/stories/gene-reported-mcr.html>>. Acesso em: 22 set. 2024.
- 2418

- 2419 CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 30th.
2420 ed. [s.l.] Wayne, PA, 2020.
- 2421
- 2422 COIL, D.; JOSPIN, G.; DARLING, A. E. A5-miseq: an updated pipeline to
2423 assemble microbial genomes from Illumina MiSeq data. **Bioinformatics**, v. 31,
2424 n. 4, p. 587–589, 15 fev. 2015.
- 2425
- 2426 DANDACHI, I. *et al.* Prevalence and Emergence of Extended-Spectrum
2427 Cephalosporin-, Carbapenem- and Colistin-Resistant Gram Negative Bacteria of
2428 Animal Origin in the Mediterranean Basin. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 28
2429 set. 2018.
- 2430
- 2431 FALAGAS, M. E.; KASIAKOU, S. K.; SARAVOLATZ, L. D. Colistin: The Revival
2432 of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative
2433 Bacterial Infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 40, n. 9, p. 1333–1341, 1
2434 maio 2005.
- 2435
- 2436 FERNANDES, M. R. *et al.* Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia*
2437 *coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene.
2438 **Eurosurveillance**, v. 21, n. 17, 28 abr. 2016.
- 2439
- 2440 FLORENSA, A. F. *et al.* ResFinder – an open online resource for identification of
2441 antimicrobial resistance genes in next-generation sequencing data and prediction
2442 of phenotypes from genotypes. **Microbial Genomics**, v. 8, n. 1, 17 jan. 2022.
- 2443
- 2444 GOGRY, F. A. *et al.* Current Update on Intrinsic and Acquired Colistin Resistance
2445 Mechanisms in Bacteria. **Frontiers in Medicine**, v. 8, 12 ago. 2021.
- 2446
- 2447 KEMPF, I. *et al.* What do we know about resistance to colistin in
2448 Enterobacteriaceae in avian and pig production in Europe? **International**
2449 **Journal of Antimicrobial Agents**, v. 42, n. 5, p. 379–383, nov. 2013.
- 2450
- 2451 LIU, Y.; LIU, J.-H. Monitoring Colistin Resistance in Food Animals, An Urgent
2452 Threat. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 16, n. 6, p. 443–446, 3 jun.
2453 2018.

- 2454 LIU, Y.-Y. *et al.* Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism
2455 MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular
2456 biological study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 2, p. 161–168, fev.
2457 2016.
- 2458
- 2459 MCDERMOTT, P. F.; ZHAO, S.; TATE, H. Antimicrobial Resistance in
2460 Nontyphoidal *Salmonella*. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 4, 27 jul. 2018.
- 2461
- 2462 MONTE, D. F. *et al.* Chicken Meat as a Reservoir of Colistin-Resistant
2463 *Escherichia coli* Strains Carrying *mcr-1* Genes in South America. **Antimicrobial**
2464 **Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 5, maio 2017.
- 2465
- 2466 MORENO, L. Z. *et al.* First report of *mcr-1*-harboring *Salmonella enterica* serovar
2467 Schwarzengrund isolated from poultry meat in Brazil. **Diagnostic Microbiology**
2468 **and Infectious Disease**, v. 93, n. 4, p. 376–379, abr. 2019.
- 2469
- 2470 NATION, R. L. *et al.* Polymyxin Acute Kidney Injury: Dosing and Other Strategies
2471 to Reduce Toxicity. **Antibiotics**, v. 8, n. 1, p. 24, 14 mar. 2019.
- 2472
- 2473 PHAM THANH, D. *et al.* Inducible colistin resistance via a disrupted plasmid-
2474 borne *mcr-1* gene in a 2008 Vietnamese *Shigella sonnei* isolate. **Journal of**
2475 **Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, n. 8, p. 2314–2317, ago. 2016.
- 2476
- 2477 PORTES, A. B. *et al.* Global distribution of plasmid-mediated colistin resistance
2478 *mcr* gene in *Salmonella*: A systematic review. **Journal of Applied**
2479 **Microbiology**, v. 132, n. 2, p. 872–889, 14 fev. 2022.
- 2480
- 2481 RAU, R. B. *et al.* Emergence of *mcr-1* Producing *Salmonella enterica* serovar
2482 Typhimurium from Retail Meat: First Detection in Brazil. **Foodborne Pathogens**
2483 **and Disease**, v. 15, n. 1, p. 58–59, jan. 2018.
- 2484
- 2485 STOESSER, N. *et al.* Colistin resistance gene *mcr-1* and pHNSHP45 plasmid in
2486 human isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. **The Lancet**
2487 **Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, p. 285–286, mar. 2016.

- 2488 TUMBARELLO, M. *et al.* Infections caused by KPC-producing *Klebsiella*
2489 *pneumoniae* : differences in therapy and mortality in a multicentre study. **Journal**
2490 **of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 7, p. 2133–2143, 1 jul. 2015.
- 2491
- 2492 TURLEJ-ROGACKA, A. *et al.* Evaluation of colistin stability in agar and
2493 comparison of four methods for MIC testing of colistin. **European Journal of**
2494 **Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 37, n. 2, p. 345–353, 25 fev.
2495 2018.
- 2496
- 2497 TYSON, G. H. *et al.* The *mcr-9* Gene of *Salmonella* and *Escherichia coli* Is Not
2498 Associated with Colistin Resistance in the United States. **Antimicrobial Agents**
2499 **and Chemotherapy**, v. 64, n. 8, 22 jul. 2020.
- 2500
- 2501 VALIAKOS, G.; KAPNA, I. Colistin Resistant *mcr* Genes Prevalence in Livestock
2502 Animals (Swine, Bovine, Poultry) from a Multinational Perspective. A Systematic
2503 Review. **Veterinary Sciences**, v. 8, n. 11, p. 265, 4 nov. 2021.
- 2504
- 2505 WANG, W. *et al.* Complete Genomic Analysis of a *Salmonella enterica* Serovar
2506 Typhimurium Isolate Cultured From Ready-to-Eat Pork in China Carrying One
2507 Large Plasmid Containing *mcr-1*. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 27 abr. 2018.
- 2508
- 2509 WEBB, H. E. *et al.* Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. **The**
2510 **Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 2, p. 144–145, fev. 2016.

CAPÍTULO 3