



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

Luana Sielski Galvão Soares

PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Salmonella*  
*enterica* subsp. *enterica* SOROVAR Heidelberg ISOLADAS DA CADEIA DE PRODUÇÃO  
DE FRANGO E POTENCIAL EFEITO ANTAGONISTA POR BACTÉRIAS ÁCIDO  
LÁCTICAS

Florianópolis  
2022

Luana Sielski Galvão Soares

PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Salmonella*  
*enterica* subsp. *enterica* SOROVAR Heidelberg ISOLADAS DA CADEIA DE PRODUÇÃO  
DE FRANGO E POTENCIAL EFEITO ANTAGONISTA POR BACTÉRIAS ÁCIDO  
LÁCTICAS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Juliano De Dea Lindner

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Cesar Tondo

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Soares, Luana Sielski Galvão  
PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE Salmonella  
enterica subsp. enterica SOROVAR Heidelberg ISOLADAS DA  
CADEIA DE PRODUÇÃO DE FRANGO E POTENCIAL EFEITO  
ANTAGONISTA POR BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS / Luana Sielski  
Galvão Soares ; orientador, Juliano De Dea Lindner,  
coorientador, Eduardo Cesar Tondo, 2022.  
74 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós  
Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Microbiologia. 3.  
Resistencia a antibióticos. 4. Genes de resistência. 5.  
Bactérias ácido lácticas. I. De Dea Lindner, Juliano . II.  
Cesar Tondo, Eduardo. III. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos  
Alimentos. IV. Título.

Luana Sielski Galvão Soares

PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Salmonella*  
*enterica* subsp. *enterica* SOROVAR Heidelberg ISOLADAS DA CADEIA DE PRODUÇÃO  
DE FRANGO E POTENCIAL EFEITO ANTAGONISTA POR BACTÉRIAS ÁCIDO  
LÁCTICAS

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora  
composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Gilberto Vinícius de Melo Pereira, Dr.(a)  
Universidade Federal do Paraná

Prof.(a) Fabienne Antunes Ferreira, Dr.(a)  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Silvani Verruck, Dr.(a)  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado  
adequado para obtenção do título de mestre em Ciência dos Alimentos

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof.(a) Juliano De Dea Lindner, Dr.(a)  
Orientador(a)

Florianópolis, 2022.

## AGRADECIMENTOS

A minha mãe Dora e minha irmã Juliana, que são minhas maiores incentivadoras desde o início da pós-graduação e sempre estão presentes em todos os momentos da minha vida, dando apoio e condições para que eu alcance todos os meus objetivos.

Ao meu marido Rodrigo, pela dedicação, carinho e apoio durante todo o período do mestrado, principalmente por fazer parte dessa conquista, pela paciência e ajuda fundamental nesses dois anos durante a realização deste projeto.

Ao meu pai Ailton que sempre deu apoio, incentivo e conselhos para a realização deste trabalho. A toda minha família (tios, tias e primos) que estão sempre ao meu lado e são pessoas que poderei contar pelo resto da vida.

A minha amiga Ana Paula Zapelini que esteve ao meu lado durante a realização do mestrado, me ajudando desde a inscrição para o mestrado até a entrega do trabalho e em todos os momentos que precisei.

Ao meu orientador Juliano Lindner pela orientação, oportunidade, atenção e apoio, mesmo durante a pandemia e pelas parcerias para a realização das análises que tornaram esse trabalho possível. Ao meu coorientador Eduardo Tondo, que apoiou o projeto desde o início sempre nos ajudando em tudo que foi necessário.

As meninas do laboratório de saúde animal e a minha chefe Sabine, que sempre me deu suporte e condições para a realização das análises necessárias, além de incentivo para que o projeto fosse realizado.

Agradeço ao pessoal da FAMERP, Mara Nogueira, Tiago Casella e aos orientandos, que me receberam muito bem, onde tive a oportunidade de aprender novas técnicas e enriquecer minha pesquisa. Ao professor Glauber Wagner e seus alunos Vilmar Benetti e Eric Kazuo (MIP/UFSC) pela realização das análises de bioinformática e pelo auxílio em todas as questões que precisei. A empresa Neopropecta, em especial ao Wellington Omori e Rafael Oliveira pelas análises de sequenciamento genético.

Ao doutorando Ivan de Marco, pelo auxílio com as cepas e análises relacionadas as bactérias ácido lácticas. Por fim, agradeço a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

*Salmonella* é o principal patógeno humano presente na cadeia avícola, e o surgimento de cepas resistentes a antibióticos dificulta o controle dessa bactéria na agroindústria e no tratamento de possíveis salmoneloses humanas de origem alimentar. Atualmente, *Salmonella* Heidelberg é um dos sorovares mais importantes para a saúde pública, uma vez que tem sido isolado com frequência em aves de diversos países e pode apresentar multirresistência. Este estudo foi realizado com 130 isolados de *S. Heidelberg* coletados de granjas de frango de corte pré-abate entre os anos de 2019 e 2020 em 18 cidades de três estados do Brasil, com o objetivo de estudar sua resistência genotípica e fenotípica. Os isolados foram testados e identificados utilizando antissoros somáticos e flagelares (O:4, H:2 e H:r) e o antibiograma foi realizado frente a 11 antibióticos de uso veterinário. As cepas foram tipadas por *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus* (ERIC)-PCR e representantes dos principais clusters dos perfis identificados foram sequenciados por *Whole Genome Sequencing* (WGS). Os resultados dos antibiogramas demonstraram que 100% dos isolados foram resistentes à sulfonamida, 54% foram resistentes à amoxicilina, e apenas um foi sensível à tetraciclina. Doze isolados foram multirresistentes. O dendrograma obtido a partir da ERIC-PCR demonstrou que as cepas foram agrupadas em 27 clusters com similaridade acima de 90%, com alguns isolados apresentando 100% de similaridade, porém com perfis fenotípicos de resistência antimicrobiana diferentes. Cepas idênticas coletadas em uma mesma granja em datas diferentes foram identificadas, indicando serem residentes. O WGS identificou um total de 66 genes de resistência. Destacaram-se os genes *sul2* (presente nas 13 amostras) e *tet(A)* que foram validados na análise experimental. O gene *fosA7* também foi identificado nas 13 amostras sequenciadas, porém não foi observada resistência no teste fenotípico, possivelmente por heterorresistência das cepas de *S. Heidelberg* avaliadas. O teste de antagonismo demonstrou que as cepas de bactérias ácido lácticas (BAL) podem ter efeito antimicrobiano sobre os isolados testados de *S. Heidelberg*. Levando em consideração que a carne de frango é uma das carnes mais consumidas no mundo, os dados aqui obtidos podem corroborar com o mapeamento da origem e tendências da resistência antimicrobiana.

**Palavras-chave:** Bactérias Ácido Lácticas. Cadeia de produção de frango. Multirresistência microbiana. Segurança de alimentos.

## ABSTRACT

*Salmonella* is the primary human pathogen in the poultry chain, and the emergence of antibiotic-resistant strains makes it challenging to control this bacterium in the agro-industry and treat possible food-borne human salmonellosis. *Salmonella* Heidelberg is one of the most important serovars for public health since it has been frequently isolated in poultry from different countries and may present multidrug resistance. To study their genotypic and phenotypic resistance, this study was carried out with 130 *S. Heidelberg* isolates collected from pre-slaughter broiler farms between 2019 and 2020 in 18 cities in three Brazilian states. The isolates were tested and identified using somatic and flagellar antisera (0:4, H:2, and H:r), and an antibiogram was performed against 11 antibiotics for veterinary use. The strains were typed by Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC)-PCR, and representatives of the main clusters of the identified profiles were sequenced by Whole Genome Sequencing (WGS). Antibiogram results showed that all isolates were resistant to sulfonamide, 54% were resistant to amoxicillin, and only one was sensitive to tetracycline. Twelve isolates were multidrug resistant. The dendrogram obtained from the ERIC-PCR showed that the strains were grouped into 27 clusters with similarity above 90%, with some isolates showing 100% similarity but with different phenotypic profiles of antimicrobial resistance. Identical strains collected on the same farm on other dates were identified, indicating that they were residents. The WGS identified a total of 66 resistance genes. The *sul2* genes (present in the 13 samples) and *tet(A)* were highlighted and validated in the experimental analysis. The *fosA7* gene was also identified in the 13 samples sequenced, but no resistance was observed in the phenotypic test, possibly due to the heteroresistance of the *S. Heidelberg* strains evaluated. The antagonism test demonstrated that lactic acid bacteria (LAB) strains might have an antimicrobial effect on the tested isolates of *S. Heidelberg*. Considering that poultry meat is one of the most consumed meats in the world, the data obtained here can corroborate the mapping of the origin and trends of antimicrobial resistance.

**Keywords:** Lactic acid bacteria. Poultry production chain. Food safety. Microbial multi-resistance.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Dendrograma da análise de 124 isolados de S. Heidelberg. ....	42
Figura 2. Perfis de resistência in silico para amostras de Salmonella Heidelberg. ....	47
Figura 3. Perfis de resistência in silico para amostras de Salmonella Heidelberg em ambos bancos de dados (RGI e ResFinder). ....	48



## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1. Origem e data de coleta dos isolados utilizados no estudo.....	28
Quadro 2. Identificação das cepas de BAL utilizadas para o teste de antagonismo. ....	31

## **LISTA DE TABELAS**

- Tabela 1. Resistência das cepas de Salmonella Heidelberg frente aos antibióticos testados...36
- Tabela 2. Cepas selecionadas para o teste de antagonismo e sequenciamento completo. ....44
- Tabela 3. Halo de inibição formado no teste de antagonismo de S. Heidelberg com BAL. ....44

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMX - Amoxicilina

AN - Ágar nutriente

BAL - Bactérias ácidos lácticas

BHI - *Brain heart infusion* (infusão cérebro coração)

CARD - *Comprehensive Antibiotic Resistance Database*

CDC - *Centers for Disease Control and Prevention* (Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos)

CLSI - *Clinical e Laboratory Standards Institute*

CN - Gentamicina

EFT - Ceftiofur

ENR - Enrofloxacina

ERIC - *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus* (consenso intergênico repetitivo de enterobactérias)

FOS - Fosfomicina

GRAS - Geralmente reconhecidas como seguras

KAN - Canamicina

LSP - Lincomicina + espectinomicina

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MDR - *Multi-drug resistant* (cepa multidroga resistente)

MRS - Man, Rogosa e Sharpe

NEO - Neomicina

NOR - Norfloxacina

PCR - *Polymerase Chain Reaction* (reação em cadeia da polimerase)

SUL - Sulfonamida

TBE - Tris/borato/EDTA

TET - Tetraciclina

WGS - *Whole genome sequencing* (sequenciamento do genoma completo)

WHO - *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVO.....	16
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3.1	<i>SALMONELLA</i> SPP.....	17
3.1.1	<i>Salmonella</i> spp. em granjas de frango de corte.....	18
3.2	<i>SALMONELLA</i> HEIDELBERG.....	20
3.3	RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS.....	21
3.4	SAÚDE ÚNICA (ONE HEALTH).....	22
3.5	SEQUENCIAMENTO DO GENOMA COMPLETO (WGS).....	24
3.6	BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS (BAL).....	26
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1	MATERIAL.....	27
4.1.1	Micro-organismos.....	27
4.2	MÉTODOS.....	31
4.2.1	Análise de <i>Salmonella</i> .....	31
4.2.2	Sorotipificação das amostras de <i>Salmonella</i> .....	32
4.2.3	Testes de sensibilidade a antibióticos.....	32
4.2.4	Extração do DNA.....	33
4.2.5	<i>Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus</i> (ERIC – PCR).....	33
4.2.6	Sequenciamento do genoma completo.....	34
4.2.7	Identificação <i>in silico</i> de genes de resistência a antibióticos.....	35
4.2.8	Testes de antagonismo por BAL.....	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1	RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS.....	35

5.2	ERIC – PCR.....	41
5.3	TESTE DE ANTAGONISMO POR BAL.....	43
5.4	GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS.....	46
6	CONCLUSÃO.....	51
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	52

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Salmonella* é conhecido há mais de 100 anos, o nome é uma referência ao médico veterinário e microbiologista Daniel Elmer Salmon que descreveu a doença associada à bactéria pela primeira vez (SARAIVA et al., 2016). O gênero *Salmonella* possui mais de 2.600 sorovares identificados (LEE et al., 2015) e é formado por pequenos bastonetes Gram-negativos, pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (FORSYTHE, 2013). É uma bactéria causadora de infecções alimentares e geralmente estão associadas ao consumo de água e alimentos contaminados (aves, suínos e ruminantes), ou com o contato direto com animais infectados (MUNCK et al., 2020). A presença de *Salmonella* spp. em animais, matérias-primas de alimentos e ração gera um grande impacto econômico negativo para a agroindústria, podendo causar impedimento de comercialização e exportação de seus produtos (RODRIGUEZ; SUAREZ, 2014).

Na Europa, as infecções alimentares causadas por *Salmonella* spp., de sorotipo não tifoide, são uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos, com mais de 90 mil casos confirmados em humanos relatados em 2019 e uma taxa de notificação de 20 casos por 100 mil habitantes (EFSA e ECDC, 2021). Nos Estados Unidos, *Salmonella* causa cerca 1,35 milhões de infecções, mais de 26 mil hospitalizações e 420 mortes anualmente (CDC, 2021). Já no Brasil, a real prevalência de infecções causadas por *Salmonella* não é precisa, pois apesar de se tratar de uma doença de notificação compulsória, os surtos nem sempre são notificados às autoridades sanitárias. Isso se deve também ao fato de que a maioria das gastroenterites não necessitam de hospitalização, nem de isolamento do agente causador (SANTOS et al., 2002). As notificações de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, entre anos de 2013 e 2017 foram de mais de 3.500 casos, sendo que 123 foram comprovadamente causados por *Salmonella* spp. (CAETANO e PAGANO, 2019).

A transmissão em humanos desse microrganismo patógeno pode ocorrer por meio do consumo de carne de aves e ovos, por isso é fundamental o controle e intervenções na cadeia de produção, o controle ambiental e a biossegurança nas granjas de frango têm um papel fundamental a fim de reduzir a contaminação por *Salmonella* no produto final (SERVER e AKAN, 2019; XIMENES et al., 2019). O controle de *Salmonella* spp. nas granjas de frango de corte é realizado através do tratamento em diferentes fontes. Diversos procedimentos, simultâneos ou sequenciais, são aplicados pelos veterinários e produtores das granjas, os quais podem ser: vacinação; tratamento com antimicrobianos; procedimentos de análise de chifonetes em equipamentos; entre outros (CHAMBERS e GONG, 2011; TELLEZ et al., 2012).

Em pesquisas recentes, o aumento no isolamento de cepas de *Salmonella* resistentes a diversos antibióticos gerou uma preocupação mundial, pois as medidas de tratamento das infecções podem se tornar limitadas (TACCONELLI et al., 2018). As bactérias podem adquirir genes de resistência a antibióticos de diferentes maneiras, envolvendo humanos, animais e ambiente. A aquisição desses genes geralmente é acelerada por meio de pressão seletiva. Na cadeia de produção, essa pressão seletiva pode ocorrer através da ração animal suplementada com antibióticos e/ou metais pesados, uso de antissépticos, biocidas e desinfetantes (FOUNOU et al., 2016; MARQUES et al., 2017; ONICIUC et al., 2019; RENSING et al., 2018; SOUCY et al., 2015;).

Embora haja algumas exceções, os antibióticos utilizados na saúde humana geralmente são da mesma classe ou compostos usados na medicina veterinária e, ao contrário da medicina humana, o uso desses medicamentos na produção animal pode ser indicado para a promoção de crescimento e prevenção de doenças nas aves. Mesmo que atualmente haja um movimento global para reduzir o uso desses antimicrobianos para a promoção de crescimento, os antibióticos, ainda que utilizados em baixas dosagens, podem resultar no aumento e persistência de bactérias resistentes (ECONOMOU e GOUSIA, 2015). Devido a sua facilidade de adaptação, a aquisição de genes de virulência por *Salmonella* pode facilitar a disseminação dessa bactéria ao longo da cadeia alimentar (FOUNOU et al., 2016; ONICIUC et al., 2019).

O surgimento de resistência bacteriana ocorre na interface de um sistema multifacetado de saúde única, acredita-se que a saúde humana não dependa apenas do comportamento relacionado a saúde da população humana, mas também das práticas industriais, agrícolas e veterinárias, bem como das condições ambientais (HERNANDO-AMADO et al., 2019). Um dos motivos que aceleram a resistência bacteriana é a “seleção”, predominantemente pelo uso de antibacterianos, em sua maioria (73%) utilizados em animais de produção (VAN BOECKEL et al., 2017, 2019). A prevenção e redução da carga de bactérias resistentes dentro de um sistema único de saúde deve ter uma abordagem multifatorial com foco nas especificidades do uso de antibióticos e nos tipos e prevalência das cepas resistentes em cada sistema (saúde humana, cadeia de produção e meio ambiente) (HOLMES et al., 2016). A saúde única visa alcançar resultados ótimos de saúde pública por meio de formulação e implementação de políticas, legislação, pesquisa científica e projetos em que vários setores colaborem juntos (LAXMINARAYAN et al., 2015). O compartilhamento eficiente de dados epidemiológicos, informações laboratoriais e a colaboração entre governo, medicina e agricultura são benéficos ao desenvolvimento da abordagem de saúde única para a prevenção e controle da resistência aos antibióticos (WANG et al., 2021).

Devido à preocupação aos riscos de contaminação por *Salmonella* na cadeia produtiva do frango, o setor tem buscado cada vez mais por alternativas que atendam aos preceitos de segurança dos alimentos, dos organismos de saúde nacionais e internacionais (NUNES et al., 2012). O controle de patógenos na agroindústria se concentra principalmente no uso de sanitizantes comerciais nas plantas de processamento com o objetivo de minimizar a contaminação cruzada entre as carcaças de frango e a contaminação dos equipamentos utilizados no processo (RASSCHAERT et al., 2008; USDA, 1996;). Ainda que a indústria venha trazendo cada vez mais medidas e tenha um papel importante no combate a contaminação por patógenos no produto final, métodos utilizados para reduzir esses patógenos ainda nas granjas podem ser eficazes para diminuir a contaminação nas carcaças de frango (ARSENAULT et al., 2007; GAST, 2007). Entre as medidas de segurança utilizadas nas granjas de produção de aves estão: vacinação nas matrizes de frango; ventilação para diminuir a umidade nas granjas; controle de insetos, pássaros e roedores; tratamento térmico da ração; tratamento da água potável; entre outros (GAST, 2007; MCKEE, 2012).

As bactérias ácido lácticas (BAL) desempenham um papel fundamental nos processos fermentativos, atuando na preservação dos alimentos. Isso é possível pois essas bactérias produzem uma variedade de antimicrobianos, como ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, peptídeos antifúngicos e bacteriocinas (QUIGLEY et al., 2013). As BAL podem se tornar dominantes durante processos fermentativos de alimentos como resultado de sua conversão extremamente eficiente dos açúcares disponíveis na matriz e rápida formação de ácidos orgânicos capazes de inibir o crescimento de outros micro-organismos que podem estar presentes no meio (HUGENHOLTZ, 2008).

O uso abusivo de antibióticos ao longo dos anos na avicultura contribuiu para o aparecimento de cepas resistentes (TEILLANT et al., 2015). A identificação dessas cepas é importante para que se busque novas possibilidades de impedir o seu desenvolvimento. Diante disso, vários estudos vêm sendo realizados para gerar alternativas para a substituir o uso de antibióticos e minimizar a contaminação por *Salmonella*. A caracterização dessas cepas em granjas é um dos passos mais importantes para identificar estratégias de prevenção e controle de *Salmonella* na cadeia de alimentos avícolas e para evidenciar o atual cenário em relação as cepas resistentes a antibióticos na cadeia produtiva. O presente estudo tem como objetivo avaliar o perfil fenotípico e genotípico de resistência a antimicrobianos em cepas de *Salmonella* Heidelberg isoladas da cadeia de produção de frango e o efeito antimicrobiano das BAL frente as cepas selecionadas com base no perfil de resistência encontrado, visando fornecer um



potencial antimicrobiano biológico para inibir o desenvolvimento de *S. Heidelberg* na cadeia de produção de frango.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil fenotípico e genotípico de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* Heidelberg isoladas da cadeia de produção de frango provenientes da análise de propés de cama aviária e o efeito antimicrobiano de cepas específicas de BAL frente a cepas selecionadas de *S. Heidelberg* com base no perfil de resistência encontrado.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar o perfil de resistência a antimicrobianos das amostras de *Salmonella* Heidelberg isoladas frente aos principais antibióticos utilizados na produção de frango;

Comparar o perfil genético das amostras de *Salmonella* Heidelberg utilizando a metodologia de ERIC – PCR;

Analisar os genes de resistência a antibióticos através do sequenciamento total das amostras selecionadas a partir do antibiograma e ERIC-PCR;

Avaliar *in vitro* o efeito antagonista de BAL frente as cepas selecionadas de *Salmonella* Heidelberg.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 *SALMONELLA* SPP.

*Salmonella* spp. é uma bactéria Gram-negativa e de grande importância para a saúde pública em diversos países devido as doenças de origem alimentar causadas por ela. Pertencente à família *Enterobacteriaceae*, é dividida em duas espécies principais: *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*, possuindo mais de 2.600 sorotipos diferentes. É uma bactéria presente em diversos ambientes, que pode resistir por várias semanas em ambientes secos e por vários meses na água (COBURN et al., 2007). Segundo a Organização Mundial da Saúde, a *Salmonella* spp. é uma das quatro causas principais de doenças diarreicas afetando cerca de 550 milhões de pessoas por ano no mundo. As infecções em humanos são geralmente leves e se manifestam como uma gastroenterite autolimitada. Porém, grupos de alto risco, como bebês, idosos e indivíduos imunocomprometidos, podem desenvolver doenças sistêmicas que requerem intervenção antibiótica. Em alguns casos podem evoluir e até tornar-se fatal, isso irá depender de diversos fatores, desde as condições do hospedeiro, concentração do inóculo, fatores de virulência até o sorotipo de *Salmonella* spp. que causou a infecção (CRUMP et al., 2015). As infecções causadas por *Salmonella* geralmente são limitadas, e geralmente são indicados apenas a reposição de fluidos e eletrólitos. A recomendação para o uso de antibióticos em humanos é que devem ser reservados para pacientes com casos graves ou pacientes que já tenham algum risco de saúde pré-existente (CRUMP et al., 2011). A falta de controle no uso de antibióticos contribui para a resistência antimicrobiana desse agente infeccioso (KUMAR et al., 2013).

*Salmonella* é conhecida por sua capacidade de formar biofilme em diferentes superfícies como aço inoxidável, madeira, plástico e vidro (DANTAS et al, 2018; OLIVEIRA et al., 2014; WANG et al., 2013). A produção de biofilme é uma estratégia de sobrevivência para esse patógeno, pois o mesmo protege os microrganismos presentes na matriz, aumentando sua resistência em ambientes desfavoráveis e à ação de antibióticos, sanitizantes e do sistema imunológico, permitindo assim a propagação de *Salmonella* no ambiente e sua transmissão para novos hospedeiros (SPECTOR e KENYON, 2012; ZADERNOWSKA e CHAJECKA-WIERZCHOWSKA, 2017; ZHAO et al, 2017).

O controle do crescimento de *Salmonella* na carne, desde a etapa de produção, é necessário para prevenir possíveis surtos de infecção alimentar. Saber a extensão do seu crescimento é importante para a avaliação da segurança e risco de produtos contaminados (HUANG, 2020).

Existe cada vez mais uma preocupação com a segurança microbiológica dos alimentos desde o produtor até o consumidor. Diversos métodos de desinfecção são conhecidos para combater micro-organismos patogênicos, como ácidos orgânicos, desinfetantes, vapor d'água, entre outros. Porém, alguns podem alterar as propriedades organolépticas dos alimentos (SPRICIGO et al., 2013). Na carne e produtos cárneos, o tratamento térmico é o principal meio de inativação de micro-organismos patógenos que podem estar presentes nos alimentos (GRIFFIS E OSAILI, 2009). Sua eficácia depende do tempo e da temperatura de exposição do patógeno e também da composição do produto submetido a esse método (OSAILI et al., 2013). A preocupação, por parte do consumidor, com a adição de compostos sintéticos nos alimentos e a procura por alimentos “mais naturais; *clean label*”, gera um interesse cada vez maior no desenvolvimento de antimicrobianos orgânicos para a conservação dos alimentos (NAIR et al, 2014).

### 3.1.1 *Salmonella* spp. em granjas de frango de corte

A presença de *Salmonella* em aves saudáveis, ou seja, sem sintomas detectáveis (infecções subclínicas/portadores saudáveis), é considerado o principal fator de risco para doenças de origem alimentar, pois o transporte dessas aves vivas assintomáticas aumenta o risco de disseminação do patógeno na granja e permite que essas bactérias sejam transmitidas facilmente através dos ovos e carne de aves para os consumidores (CAP et al., 2020; DEWI et al., 2021). Embora *Salmonella* esteja presente em diversos tecidos das aves, em localizações intra e extracelulares, seu principal reservatório é o trato intestinal, caracterizando a transmissão horizontal na cadeia produtiva (BARROW et al., 2012).

O trato digestivo das aves possui um diverso grupo de microrganismos, onde há interações complexas com o hospedeiro e o ambiente. Essas interações mantêm a saúde das aves e influenciam o sistema imunológico do hospedeiro, modulando as funções bioquímicas associadas a quebra de nutrientes, fortalecendo a morfologia e fisiologia intestinal, atuando sobre as toxinas e patógenos (PAN e YU, 2014). O sistema digestivo das aves é curto se comparado a outros animais, seu trânsito total é inferior a 3,5 horas, essa característica favorece a sobrevivência de microrganismos com alta capacidade de adesão na mucosa intestinal, como é o caso de *Salmonella* (HUGHES, 2008; PAN e YU, 2014).

A cadeia de produção de frango consiste em operações integradas que compreende granjas de matrizes, central de incubatório, granjas de frango de corte, abate e processamento de carcaça (GLATZ e PYM, 2015). Portanto, a disseminação de *Salmonella* em granjas de

frango pode ocorrer de maneira vertical através da reprodução de frangos já contaminados, ou de maneira horizontal, por transmissão oriunda de lotes anteriores já contaminados, quando a limpeza da granja não é efetiva contaminando o próximo lote, ou por fontes ambientais como ração ou água contaminada (DAR, et al., 2017; ROSE et al., 2000). Além disso, *Salmonella* pode resistir por vários meses no trato gastrointestinal do frango e sobreviver por mais de dois anos na cama aviária e na ração (BEAL et al., 2004; DAVIES e BRESLIN, 2003).

A contaminação também pode ocorrer durante as operações pré-abate e transporte dos frangos para o abatedouro, o estresse pode levar ao aumento de eliminação de excreções e a proximidade de outros frangos em caixa pode resultar em uma alta transmissão cruzada (MARIN e LAINEZ, 2009). A contaminação no abatedouro pode acontecer por diferentes maneiras: a presença inicial de *Salmonella* no frango oriunda da granja, contaminação cruzada de frangos de lotes diferentes que foram abatidos no mesmo dia ou a transmissão através de focos de contaminação de *Salmonella* já existente no abatedouro (SHANG et al., 2019). No abatedouro, a etapa de evisceração dos animais também é uma importante via de contaminação por *Salmonella*, a qual pode ocorrer através das fezes das aves ou ferramentas, pisos e paredes mal higienizadas, assim como os próprios manipuladores que também podem ser um meio de contaminação. A contaminação cruzada das carcaças e produtos cárneos também pode continuar durante o manuseio, processamento e preparação da carne (KAGAMBEGA et al., 2013; TADESSE E GEBREMEDHIN, 2015).

Em um estudo realizado por Volkova et al. (2010), foi detectada contaminação em cama de granjas de frango, no primeiro ou segundo lote e permaneceu em, pelo menos, mais quatro lotes subsequentes, sendo *Salmonella* Heidelberg o sorovar mais frequente (87,5%). Esse resultado aumenta a possibilidade de contaminação nas carcaças de frango durante o processamento. A cama das granjas atua como um ambiente extra-intestinal para a seleção natural de cepas de *Salmonella*, permitindo a adaptação e expressão dos fatores de virulência adquiridos, o que influencia na capacidade de resistência no ambiente tornando as medidas de prevenção e limpeza menos eficazes (OLADEINDE et al., 2018).

Diversos fatores genéticos que conferem características fenotípicas como capacidade de adesão, resistência a desinfetantes e metais pesados, bem como mecanismos de imunoevasão, permitem que vários sorotipos de *Salmonella* persistam no ambiente de produção e estabeleçam infecções bem-sucedidas em aves. Isso dificulta a implementação de estratégias efetivas para o controle de *Salmonella* nas agroindústrias. Os sorotipos e também genótipos devem ser considerados para entender a dinâmica deste patógeno em todo o sistema de produção (MEDINA-SANTANA et al., 2022). Por esses motivos, o monitoramento é essencial para

determinar a prevalência de *Salmonella* na fase de pré-alojamento nas granjas, onde as análises de amostras ambientais e de equipamentos são consideradas um meio eficiente de detecção e controle de *Salmonella* (MUELLER-DOBLIES et al., 2009).

### 3.2 *SALMONELLA* HEIDELBERG

O sorovar Heidelberg foi isolado e relatado em produtos avícolas no Brasil a partir de 1962 (HOFER et al., 1997). Em três frigoríficos diferentes no sul do Brasil, carcaças de frango analisadas antes e depois do resfriamento apresentaram resultados positivos para *Salmonella* de 31,7 e 20%, respectivamente, e destas, 63,9% foram identificadas como *S. Heidelberg* (DICKEL, 2004). Outro estudo também realizado no Brasil analisou 146 isolados provenientes de carne de frango nos anos de 2014 e 2017, identificando 55% das cepas como o sorovar Heidelberg (RAU et al., 2021). Em 2012, Bounar-Kechih et al., identificaram 13 sorotipos diferentes em amostras de *Salmonella* isoladas de aves em 4 províncias da Argélia, sendo que o mais prevalente (24%) foi *Salmonella Heidelberg*.

Nos casos de contaminação em seres humanos, ovos e aves foram identificados como as principais fontes de contaminação por *Salmonella Heidelberg*, esse sorovar pode ser mais invasivo em humanos do que os outros sorovares não tifoides (CHITTICK et al., 2006). Em 2015, os cinco sorovares de *Salmonella enterica* mais comumente isolados foram Enteritidis, Typhimurium, Newport, *Salmonella* monofásica (1,4,[5], 12:i:-) e Heidelberg, sendo esses sorovares responsáveis por mais da metade das infecções por *Salmonella* nos Estados Unidos (CDC, 2018; MEDALLA et al., 2016). Nos EUA, Canadá e União Europeia, a salmonelose é identificada como a segunda doença mais frequente transmitida por alimentos (SARAIVA et al., 2016).

A constante detecção de *S. Heidelberg* em camas aviárias, especialmente no sul do país, revela que o manejo dessas camas não está sendo adequado e merece especial atenção. Sob o ponto de vista de controle de riscos microbiológicos, o reuso da cama deve ser condicionado ao uso de tratamentos comprovadamente eficazes na inativação de patógenos residuais antes de alojar o lote subsequente (VAZ et al, 2019). No Brasil, *S. Heidelberg* está entre as *Salmonellas* não tifoides mais problemáticas para a avicultura de corte, devido a sua habilidade de persistir no ambiente avícola no período entre lotes, (VOSS-RECH et al, 2019), por esse motivo está entre os sorovares mais isolados em carcaças de frangos e perus no país (BRASIL, 2021).

### 3.3 RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

Os antibióticos são utilizados desde a década de 1960 para reduzir a mortalidade em aves jovens, que é causada por uma variedade de patógenos, incluindo *Salmonella*. Seu uso acelerado sempre causou preocupação global com o desenvolvimento de bactérias resistentes, na maioria dos casos mediada por plasmídeos transmissíveis. Em relação a *Salmonella*, alguns sorovares apresentam resistência a diferentes antibióticos e isso acaba afetando a cadeia produtiva (BARROW et al., 2012). O conceito de resistência antimicrobiana pode ser definido como a habilidade de um micro-organismo continuar a multiplicar-se ou persistir na presença de níveis terapêuticos de um determinado agente antimicrobiano (ANVISA, 2012).

Durante as últimas décadas, os antibióticos estão perdendo a sua eficácia devido ao rápido aparecimento de cepas resistentes a antibióticos (SALEEM et al., 2010). Segundo a FDA, nos Estados Unidos, país onde os antibióticos são amplamente utilizados na produção animal, há mais quilos de antibióticos vendidos para esses animais do que para uso em humanos (CDC, 2013). Ainda segundo o CDC, mais de 2,8 milhões de pessoas são infectadas por bactérias resistentes a antibióticos anualmente nos Estados Unidos levando a morte de mais de 35 mil pessoas (CDC, 2021).

A coleta e análise de amostras na produção animal é considerada uma prioridade para uma vigilância integrada de bactérias resistentes a antimicrobianos. Essas amostras podem fornecer uma medida imparcial da resistência antimicrobiana em animais que são fonte de alimentação humana. Em todo o mundo, *Salmonella*, é prioridade quando se trata de investigação de bactérias resistentes de origem alimentar. Na cadeia de produção animal, as amostras podem ser coletadas em varias etapas do processo, tanto nas granjas quanto no abatedouro. Essas amostras geralmente são coletadas para atender a uma legislação específica, ou para auto-controle da industria, e servem como dados para investigar possíveis bactérias resistentes a antibióticos (WHO, 2017).

O uso contínuo e generalizado de antimicrobianos em frangos para tratamento terapêutico, profilaxia e promoção de crescimento vem gerando um aumento da propagação e seleção de formas multirresistentes de cepas de *Salmonella* em animais produtores de alimentos, gerando um problema cada vez maior na cadeia produtiva de alimentos (CHANTZIARAS et al., 2014; POSTMA et al., 2016). Esse fato tem ainda mais relevância nos países em desenvolvimento, onde o uso indevido e a falta de controle sobre os antibióticos é um problema que precisa ser solucionado (REARDON, 2014).

A resistência de *Salmonella* a antimicrobianos aumenta a dificuldade de tratamentos e não traz os benefícios esperados no uso de medicamentos (COLLARD et al., 2007). O tratamento de aves com antibiótico também não é uma opção ideal, pois além de promover a resistência de cepas patogênicas, os resíduos dos antibióticos administrados nos animais podem afetar diretamente o sistema imunológico, crescimento e os processos do metabolismo humano (MUHAMMAD et al., 2020).

Diferentes mecanismos podem causar a resistência de uma bactéria a antibióticos como, produzir enzimas que degradam o princípio ativo do antibiótico, alterar a permeabilidade da membrana celular, afetar a estrutura da parede celular, interferir na síntese de proteínas ou DNA prejudicando o mecanismo de ação do antibiótico ou também reduzir a concentração intracelular do antimicrobiano (BARBOSA e LEVI, 2000; GIEDRAITIENE et al, 2011).

Diante do uso expressivo dos antimicrobianos, os micro-organismos podem desenvolver e/ou adquirir uma variedade de genes ou sofrerem mutações que conferem resistência aos antimicrobianos e também aumentam a virulência da bactéria. Alguns desses genes conhecidos estão localizados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos, transposons, sequências de inserção e nas ilhas de patogenicidade. Consequentemente, esses genes são facilmente transferidos entre bactérias que vivem no mesmo habitat. Sendo assim, *Salmonella* pode desempenhar um papel importante como receptora ou doadora de genes de resistência sendo relevante para a difusão genética, gerando um risco de origem alimentar para a saúde humana (MCMILLAN et al., 2019).

A resistência a antibióticos trata-se de um problema global, onde já existem diversos estudos com o objetivo de modificar a forma de tratamento e procedimentos em relação ao uso de antimicrobianos. Com bases nesses estudos, sabemos que os sorovares e níveis de resistência são diferentes de país para país, portanto a determinação de sorovares resistentes em diferentes áreas é necessário para controlar a transmissão de infecção dentro e fora de determinada região. A carne de frango produzida do Brasil é exportada para diversos continentes. Os serviços de saúde, particularmente em saúde alimentar, são os mesmos em muitas regiões do mundo, como nos países da Europa. Porém, em algumas áreas, como no Oriente Médio por exemplo, a cobertura e a qualidade dos programas relacionados à alimentação são muito diferentes entre seus países (NADI et al., 2020).

### 3.4 SAÚDE ÚNICA (ONE HEALTH)

Segundo a Organização Mundial da Saúde, Saúde Única (do inglês *one health*) é uma abordagem integrada e unificadora para equilibrar e otimizar a saúde das pessoas, animais e ecossistema, usando ligações estreitas e interdependentes entre esses campos para criar novos métodos de vigilância e controle de doenças. A saúde dos seres humanos, animais e ecossistema estão intimamente interligadas, as mudanças nessas relações podem aumentar o risco de desenvolvimento e disseminação de novas doenças tanto em humanos quanto em animais. O objetivo da saúde única é integrar esses setores, em vez de mantê-los separados, para isso é necessário colaboração, comunicação e coordenação entre as partes envolvidas. A agricultura, pecuária, comércio de animais, urbanização, indústrias, mudanças climáticas e invasões de áreas selvagens são alguns fatores que criaram novas oportunidades para o surgimento e disseminação de doenças. Cerca de 60% das doenças infecciosas emergentes relatadas globalmente são de origem animal, tanto selvagem quanto doméstico. Mais de 30 novos patógenos humanos foram descobertos nas últimas 3 décadas, dos quais 75% tiveram origem em animais (WHO, 2022).

As origens do termo saúde única são seculares e baseiam-se na dependência mútua de humanos e animais e no reconhecimento de que eles compartilham não apenas o mesmo ambiente, mas também muitas doenças infecciosas (ZINSSTAG et al., 2012). Segundo Burns e Stephen (2015), a saúde única é pragmática por natureza e sustentada por um princípio de pesquisa para ação que busca mudanças no mundo real. Ruegg et al. (2017) argumentam ainda que a saúde única posiciona os profissionais de saúde como agente de mudanças.

A saúde única ressalta que o crescimento sustentado da população humana é afetado pelas mudanças climáticas e pela redução dos recursos naturais, sugerindo que vários setores devem trabalhar juntos para a segurança global da saúde humana, animal e do ecossistema (SO et al., 2015). Porém a maioria dos sistemas de vigilância são implementados separadamente para o setor de saúde humana e animal (WENDT et al., 2015). Uma abordagem de saúde única é necessária para abordar efetivamente o surgimento de doenças, bem com outros problemas complexos, como a resistência antimicrobiana, produção sustentável de alimentos, segurança e proteção alimentar, perda de biodiversidade, manutenção de ecossistemas hídricos e as consequências das mudanças climáticas (CRONIN et al., 2014).

As oportunidades para aumentar a conscientização e a compreensão da dimensão da resistência antimicrobiana baseada na saúde única incluem a promoção da saúde e programas de proteção da saúde oferecidos por organizações de saúde pública e saúde animal, campanhas de informação ao consumidor, atividades de sensibilização de agricultores, médicos veterinários, publicações por parte das indústrias e desenvolvimentos profissional. O histórico



de algumas dessas principais tentativas de abordar os problemas de resistência antimicrobiana na saúde única mostra que existe diferenças notáveis entre os países, na velocidade e eficiência com que eles fizeram grandes mudanças regulatórias na disponibilidade de antimicrobianos para uso em animais com base em preocupações com a saúde humana. Globalmente, a Europa e os Estados Unidos tem sido os centros dominantes de atividade regulatória, com alguns outros países seguindo o exemplo, particularmente em relação as abordagens dos EUA (MCEWEN e COLLIGNON, 2018). A resistência antimicrobiana requer uma abordagem multidisciplinar, multissetorial e coordenada para lidar com as ameaças a saúde na interface humano-animal-ambiente (ROBINSON et al., 2016). De uma perspectiva econômica, a abordagem “One Health” pode coordenar, comunicar e colaborar com vários setores, partes interessadas e formuladores de políticas para melhorar a saúde interligada de humanos, animais e meio ambiente (PRESTINACI et al., 2015).

Atualmente, é um desafio mudar o atual paradigma da saúde para o modelo saúde única, baseado em diversas ecologias e geografias. Para estabelecer o padrão saúde única, é essencial uma avaliação forte e considerável de seus benefícios. A economia tem duas características significativas para ajudar a pensar sobre esse conceito, o uso eficiente de recursos e o valor da substituição do modelo de saúde atual. A comparação entre os custos é fundamental para transformar a abordagem convencional de saúde para a abordagem “One Health”. Por exemplo, uma redução na carga de doenças é um resultado potencial do conceito One Health, que pode gerar redução de custos em diversos setores (ASLAM et al., 2021). A relação genética baseada em sequenciamento total entre isolados de diversas fontes pode ser útil para entender as possíveis rotas de transmissão entre os nichos da Saúde Única. Por fim, os registros de metadados precisos é fundamental e deve ser feito de acordo com procedimentos harmonizados entre os diversos setores de atuação (GRIFFITHS et al., 2017).

### 3.5 SEQUENCIAMENTO DO GENOMA COMPLETO (WGS)

A técnica WGS é o método mais discriminatório disponível para estabelecer se um organismo está relacionado a outro. WGS é uma abordagem baseada na identidade genética ou impressão digital de um organismo que é definido em seu ácido desoxirribonucleico (DNA). WGS é uma técnica realizada em laboratório através de um sequenciador. Os dados obtidos são analisados por uma abordagem matemática, denominada bioinformática (BAERT et al., 2021). O fluxo de trabalho WGS consiste em várias etapas, obtenção de uma cultura pura do isolado,

extração do DNA, preparação e amplificação da biblioteca, sequenciamento, análise de dados e interpretação de bioinformática (ALLARD et al., 2012; BAERT et al., 2021).

WGS tem o poder discriminatório mais forte dos métodos de caracterização atualmente conhecidos e é mais eficaz quando se trata de determinar se vários isolados tem uma origem comum. Essa técnica é capaz de determinar como eles estão relacionados e, através de um banco de dados, é possível determinar se o microrganismo pode estar relacionado algum isolado vinculado a ingredientes, produtos acabados ou surto de doenças. Portanto, o WGS pode ajudar a identificar a causa raiz de uma fonte de contaminação, o que pode levar a eliminação ou evitar sua recorrência. Isolados intimamente relacionados são mais propensos a compartilhar um ancestral comum ou que pode ter sofrido mutação ao longo do tempo. Isso é útil para analisar a causa raiz de uma contaminação na indústria de alimentos por exemplo, pois um alto grau de similaridade, onde apenas alguns pares de bases são diferentes, pode indicar uma fonte comum de contaminação. Porém, algumas bactérias sofrem mutação continuamente, perfis genéticos altamente relacionados podem também ser resultado de eventos paralelos e independentes, portanto as conclusões precisam ser tiradas em conjunto com outros fatos, como origem do isolado, local da amostragem, data, entre outros (BAERT et al., 2021).

O WGS pode ser útil para a indústria de alimento revelar mais informações sobre seus isolados microbianos. Por exemplo, identificar uma resistência potencial contra agentes de limpeza e desinfecção pode ser usado para determinar qual método de desinfecção será mais bem sucedido (EFSA et al., 2019). Além da caracterização de isolados, o WGS também é aplicável na microbiologia diagnóstica, para a determinação de perfis de resistência antimicrobiana, estabelecer fontes de infecções recorrentes e transmissão entre pacientes. As sequências genômicas obtidas também fornecem um rico recurso que pode ser explorado para prever fenótipo do patógeno, as principais características de relevância clínica, resistência a antibiótico e virulência, mas também podem incluir outras características, como a capacidade de formar biofilmes ou a sobrevivência do microrganismo no ambiente (BALLOUX et al., 2018). A tecnologia WGS é altamente adequada para *Salmonella* e vários outros patógenos de origem alimentar. Para cepas de *Salmonella*, WGS está substituindo ferramentas convencionais como o Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), que muitas vezes não é adequada para rastrear com precisão fontes de contaminação (ALLARD et al., 2012).

O WGS fornece dados que não são possíveis com outras técnicas, pois possui maior poder de discriminação. Esse nível de detalhamento não é necessário em todas as situações, mas em alguns casos, por exemplo, para demonstrar clonalidade entre cepas, o WGS é a única solução (BAERT et al., 2021). Entre as principais vantagens de uso de sequenciamento genético, é que

ela permite a geração de um número suficiente de leituras de alta qualidade para os conjuntos de dados WGS e algoritmos de bioinformática para realizar análises subsequentes através da grande quantidade de dados resultantes (KHACHATRYAN et al., 2020). Assim, o WGS já está sendo bastante explorado pela indústria de alimentos para melhorar a segurança dos alimentos (RANTSIOU et al., 2018), porém, devido à alta complexidade, custo e tempo de obtenção dos resultados, ainda não é um método que faz parte da rotina das indústrias. No entanto, o WGS é uma ferramenta poderosa no portfólio de métodos disponíveis para ser utilizado pela indústria (BAERT et al., 2021).

### 3.6 BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS (BAL)

As BAL são utilizadas na produção de alimentos fermentados. São caracterizadas como não formadoras de esporos, bastonetes ou cocos Gram-positivos, catalase negativa, que compartilham muitas propriedades bioquímicas e fisiológicas (ABRIOUNEL et al., 2012). As BAL são bactérias de grande interesse para a indústria de alimentos, pois desempenham um papel fundamental no processo de fermentação anaeróbia e por suas características potencialmente probióticas. Elas fazem parte da microbiota saudável do intestino humano. Algumas são consideradas probióticas, pois são bactérias benéficas que colonizam o intestino de humanos e animais. Algumas bactérias desse grupo são tolerantes ao meio ácido e bile e pode aderir a superfícies epiteliais intestinais. Algumas também apresentam atividade antagonista a micro-organismos patogênicos e outras propriedades antimicrobianas, como por exemplo, a produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, peptídeos antifúngicos e bacteriocinas (QUIGLEY et al., 2013; WAN et al., 2016). Por isso, os efeitos benéficos dessas bactérias não se limitam apenas à produção e preservação de alimentos, mas também podem ser uma alternativa ao uso de antibióticos tradicionais, especialmente no controle do problema global de resistência antimicrobiana (COTTER et al., 2013).

Os micro-organismos antagonistas adicionados a produtos alimentícios para inibir patógenos ou prolongar a vida útil dos alimentos, enquanto afetam o mínimo possível as características sensoriais, são chamados de culturas protetoras (LUCKE, 2000). As BAL geralmente são utilizadas como culturas protetoras pela indústria, pois são bactérias que já estão presentes naturalmente em produtos alimentícios, tem um longo histórico de uso seguro e fazem parte da microbiota intestinal de humanos e animais (MARAGKOUidakis et al., 2009). Além de serem utilizadas para inibir patógenos nos alimentos, as BAL também podem agregar valor

ao produto final. As culturas selecionadas são utilizadas na indústria proporcionando segurança microbiológica, uniformidade e a qualidade do produto final (ROSS et al., 2002).

Os ácidos orgânicos produzidos pelas BAL são *food grade*, e são amplamente utilizados para controlar patógenos de origem alimentar em produtos alimentícios. Sua atividade antibacteriana pode variar dependendo do estado fisiológico do organismo e das características físico-químicas do ambiente externo (AL-NABULSI et al., 2014; RICKE, 2003). A multirresistência das bactérias patógenas e a formação de biofilme levam a falta de eficácia dos antibióticos disponíveis para o tratamento de infecções, enquanto a administração de bactérias ácido lácticas tem se mostrado funcional na prevenção e combate de infecções (VUOTTO et al., 2014). Em estudo realizado por Wang et al. (2015), 0,5% de ácido láctico foi utilizado para inibir completamente o crescimento de células de *S. Enteritidis* e *Escherichia coli* após 1 hora de incubação e *Listeria monocytogenes* após 2 horas, ambas com concentração inicial de  $10^{-7}$  UFC/ml.

O uso de BAL também são desejáveis em granjas, pois apresentam outras características além do efeito antimicrobiano. Por exemplo, a fosfatase excretada pelas BAL pode levar a melhora da digestão do fosfato em frangos, sendo que algumas BAL com propriedades probióticas podem reduzir micotoxinas quando presentes na ração (NEVELING et al., 2020; HAQUEA et al., 2020). Levando em consideração a importância da *Salmonella*, o uso de BAL pode ser um mecanismo de prevenção as complicações causadas por esse patógeno (RAHIMIFRAD et al., 2016).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

#### 4.1.1 Micro-organismos

##### 4.1.1.1 Isolados de *Salmonella Heidelberg*

Para o desenvolvimento do estudo, cepas de *S. Heidelberg* isoladas de granjas de frango de corte reincidentes (granjas positivas em amostras de propé de cama aviária para *S. Heidelberg* em dois lotes seguidos) foram coletadas através de propés de cama aviária em 18 diferentes cidades dos Estados de Santa Catarina, Paraná e Bahia, entre os anos de 2019 e 2020 (Quadro 1).

Quadro 1. Origem e data de coleta dos isolados utilizados no estudo.

<b>Identificação</b>	<b>Data de coleta</b>	<b>Origem</b>
1	08/04/2019	Nova Trento – SC
2	09/09/2019	Nova Trento-SC
3	23/09/2019	Mafra - SC
4	23/09/2019	Mafra-SC
5	19/12/2019	Mafra-SC
6	05/06/2019	Lapa-PR
7	03/09/2019	Lapa-PR
8	03/09/2019	Lapa-PR
9	30/04/2019	Rio Negro-PR
10	06/08/2019	Rio Negro-PR
11	02/07/2019	São Bonifacio-SC
12	02/07/2019	São Bonifacio-SC
13	09/09/2019	Itaiópolis-SC
14	12/11/2019	Itaiópolis-SC
15	11/02/2019	Araquari-SC
16	03/06/2019	Araquari-SC
17	26/02/2019	Canelinha-SC
18	26/02/2019	Canelinha-SC
19	28/05/2019	Canelinha-SC
20	05/06/2019	Lapa-PR
21	03/09/2019	Lapa-PR
22	03/09/2019	Lapa-PR
23	03/09/2019	Lapa-PR
24	03/09/2019	Lapa-PR
25	03/12/2019	Lapa-PR
26	03/12/2019	Lapa-PR
27	03/12/2019	Lapa-PR
28	24/04/2019	Mandirituba-PR
29	24/04/2019	Mandirituba-PR
30	17/07/2019	Mandirituba-PR
31	10/06/2019	Mandirituba-PR
32	21/08/2019	Mandirituba-PR
33	21/08/2019	Mandirituba-PR
34	20/05/2019	São José dos Pinhais-PR
35	20/05/2019	São José dos Pinhais-PR
36	20/05/2019	São José dos Pinhais-PR
37	20/05/2019	São José dos Pinhais-PR
38	30/07/2019	São José dos Pinhais-PR
39	09/07/2019	São Mateus do Sul-PR
40	03/09/2019	São Mateus do Sul-PR

<b>Identificação</b>	<b>Data de coleta</b>	<b>Origem</b>
41	15/07/2019	Lapa-PR
42	18/12/2019	Lapa-PR
43	24/04/2019	São José dos Pinhais-PR
44	30/07/2019	São José dos Pinhais-PR
45	25/02/2019	Schroeder-SC
46	23/09/2019	Schroeder-SC
47	10/07/2019	Lapa-PR
48	10/07/2019	Lapa-PR
49	10/07/2019	Lapa-PR
50	28/05/2019	Lapa-PR
51	28/05/2019	Lapa-PR
52	13/08/2019	Lapa-PR
53	28/05/2019	Lapa-PR
54	13/08/2019	Lapa-PR
55	08/04/2019	Campo do Tenente-PR
56	15/07/2019	Campo do Tenente-PR
57	10/06/2019	Lapa-PR
58	21/08/2019	Lapa-PR
59	08/04/2019	Lapa-PR
60	30/07/2019	Lapa-PR
61	09/12/2019	Lapa-PR
62	05/06/2019	Lapa-PR
63	05/06/2019	Lapa-PR
64	13/08/2019	Lapa-PR
65	26/10/2020	Mandirituba-PR
66	19/09/2019	Bela Vista do Toldo-SC
67	02/12/2019	Bela Vista do Toldo-SC
68	28/01/2019	Jaraguá do Sul-SC
69	12/11/2020	Coração de Maria-BA
70	21/10/2019	Jaraguá do Sul-SC
71	10/04/2019	Lapa-PR
72	02/07/2019	Lapa-PR
73	02/07/2019	Lapa-PR
74	04/09/2019	Lapa-PR
75	04/09/2019	Lapa-PR
76	04/12/2019	Lapa-PR
77	03/07/2019	Mandirituba-PR
78	04/09/2019	Mandirituba-PR
79	04/09/2019	Mandirituba-PR
80	12/02/2020	Lapa-PR
81	12/02/2020	Lapa-PR
82	04/05/2020	Lapa-PR
83	04/05/2020	Lapa-PR
84	07/07/2020	Lapa-PR

<b>Identificação</b>	<b>Data de coleta</b>	<b>Origem</b>
85	07/07/2020	Lapa-PR
86	04/05/2020	Lapa-PR
87	07/07/2020	Lapa-PR
88	09/03/2020	Rio Negro-PR
89	09/03/2020	Rio Negro-PR
90	19/05/2020	Rio Negro-PR
91	02/01/2020	Canoinhas-SC
92	02/01/2020	Canoinhas-SC
93	08/06/2020	Canoinhas-SC
94	08/06/2020	Canoinhas-SC
95	13/01/2020	Jaragua do Sul-SC
96	09/07/2020	Jaragua do Sul-SC
97	10/03/2020	Rio Negro-PR
98	20/05/2020	Rio Negro-PR
99	25/02/2020	Lapa-PR
100	25/02/2020	Lapa-PR
101	25/02/2020	Lapa-PR
102	25/02/2020	Lapa-PR
103	25/05/2020	Lapa-PR
104	25/05/2020	Lapa-PR
105	25/05/2020	Lapa-PR
106	10/11/2020	Quitandinha-PR
107	25/05/2020	Lapa-PR
108	06/01/2020	Mandirituba-PR
109	06/01/2020	Mandirituba-PR
110	30/03/2020	Mandirituba-PR
111	04/03/2020	Piên-PR
112	05/05/2020	Piên-PR
113	26/02/2020	Lapa-PR
114	08/07/2020	Lapa-PR
115	08/07/2020	Lapa-PR
116	06/04/2020	Lapa-PR
117	10/06/2020	Lapa-PR
118	08/01/2020	Lapa-PR
119	27/05/2020	Lapa-PR
120	06/01/2020	Mafra-SC
121	23/03/2020	Mafra-SC
122	10/02/2020	Rio Negro-PR
123	21/04/2020	Rio Negro-PR
124	10/02/2020	Lapa-PR
125	10/02/2020	Lapa-PR
126	07/07/2020	Lapa-PR
127	20/01/2020	Mafra-SC
128	04/06/2020	Mafra-SC

<b>Identificação</b>	<b>Data de coleta</b>	<b>Origem</b>
129	22/09/2020	Rio Negro-PR
130	28/09/2020	Rio Negro-PR

As amostras foram analisadas através da metodologia descrita na Portaria n° 126/1995 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Foram utilizadas 130 cepas de *S. Heidelberg* previamente isoladas e estocadas em temperatura ambiente em tubos contendo ágar nutriente (Kasvi, São José do Pinhais, PR, Brasil). A pureza das cepas foi avaliada antes da reativação utilizando a técnica de esgotamento em ágar Hecktoen (Merck, São Paulo, Brasil).

#### 4.1.1.2 Bactérias ácido lácticas (BAL)

As BAL foram provenientes do cepário do Laboratório de Tecnologia de Alimentos e Bioprocessos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CAL) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Foram utilizadas 10 cepas de BAL para o teste de antagonismo reativadas em caldo Man, Rogosa e Sharpe (MRS, Merck, São Paulo, Brasil) (Quadro 2).

Quadro 2. Identificação das cepas de BAL utilizadas para o teste de antagonismo.

<b>BIOTIPO</b>	<b>ESPÉCIE</b>
LBP UFSC 001	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
LBP UFSC 013	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>
LBP UFSC 014	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>
LBP UFSC 017	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
LBP UFSC 018	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
LBP UFSC 019	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
LBP UFSC 021	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
LBP UFSC 022	<i>Latilactobacillus sakei</i>
LBP UFSC 024	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>
LBP UFSC 025	<i>Streptococcus thermophilus</i>

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Análise de *Salmonella*

A identificação dos isolados foi realizada através da análise microbiológica baseada na Portaria n° 126/1995 – MAPA. As amostras de propés foram diluídas em água peptonada



tamponada 1% (Merck, São Paulo, Brasil) na proporção de 1:10 e incubadas a  $36\pm 1$  °C por 18 a 24 horas, depois foi inoculado 1000 mL em caldo tetracionado (Merck, São Paulo, Brasil) e 100 µL em caldo Rappaport Vassiliadis (Merck, São Paulo, Brasil) e incubados a  $42\pm 1$  °C por 18 a 24 horas. Posteriormente, as amostras foram plaqueadas em ágar hektoen (Merck, São Paulo, Brasil) e ágar verde brilhante vermelho de fenol (Merck, São Paulo, Brasil) e novamente incubadas a  $36\pm 1$  °C por 18 a 24 horas. As colônias suspeitas foram submetidas a provas bioquímicas e posteriormente foi realizada a sorotipificação.

#### 4.2.2 Sorotipificação das amostras de *Salmonella*

A partir de uma colônia de *Salmonella* cultivada em ágar nutriente, foi adicionado 0,5 mL de solução salina NaCl 0,85% (c/v). Em seguida foi pipetado em uma placa de vidro 10 µL da solução bacteriana e acrescentado 10 µL do antissoro somático Poli A-67 (SSI, Hillerod, Dinamarca). Após 30 segundos foi realizada a leitura da formação de grumos, indicando reação positiva ao antissoro testado. Da mesma forma, os isolados foram testados para o antissoro somático 0:4 (grupo B), e para os flagelares H:2 e H:r segundo BRASIL (1995). As 130 cepas utilizadas neste estudo foram positivas para os antissoros testados.

#### 4.2.3 Testes de sensibilidade a antibióticos

Os antibiogramas foram realizados de acordo com o método do *The Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2021). Cada cultura microbiana foi reativada em caldo BHI (*Brain heart infusion*) (Merck, São Paulo, Brasil) e incubada a  $36 \pm 1$  °C pelo tempo necessário para atingir a turbidez 0,5 da escala McFarland (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/g). Após o ajuste da turbidez caso necessário, foi embebido no tubo de crescimento da cultura um *swab* estéril com posterior espalhamento em ágar Mueller Hinton (Merck, São Paulo, Brasil). Após 5 min, os discos antibióticos (Oxoid) selecionados foram depositados com uma pinça estéril de maneira equidistante no ágar, e a placa incubada a  $36 \pm 1$  °C por 24 h. Com o auxílio de um paquímetro foram medidas as zonas completas de inibição no ágar, gerando resultado resistente, intermediário ou sensível em relação a cada antibiótico testado. Isolados que apresentaram resistência a três ou mais classes de antibióticos foram considerados resistentes a multidrogas (MDR), de acordo com Magiorakos et al. (2011). Foi utilizada como cepa controle na realização dos antibiogramas *Escherichia coli* ATCC 25922. Os antibióticos de uso veterinário utilizados nesse estudo foram: amoxicilina (AMX; 10 µg), lincomicina + espectinomicina (LSP; 109 µg), fosfomicina (FOS; 50 µg), gentamicina (CN; 10 µg),

enrofloxacin (ENR; 5 µg), norfloxacin (NOR; 10 µg), Canamicina (KAN; 30 µg), sulfonamidas (SUL; 300 µg), tetraciclina (TET; 30 µg), neomicina (NEO; 30 µg) e ceftiofur (EFT; 30 µg). O teste foi realizado em duplicata, os antibióticos utilizados foram escolhidos com base na lista da *World Health Organization* (WHO, 2017), sendo que alguns deles são classificados como antimicrobianos com alta prioridade para teste.

#### 4.2.4 Extração do DNA

A extração do DNA foi realizada para seguir com as análises de ERIC-PCR e WGS. Os isolados estocados em ágar nutriente foram previamente incubados em tubos contendo 10 mL de BHI (Merck, São Paulo, Brasil) por 18 – 24 h, a  $36 \pm 1$  °C, para serem utilizados na extração. A extração do DNA dos isolados de *S. Heidelberg* foi realizada através de um extrator automático (modelo IndiMag 48s, Indical Bioscience, Leipzig, Alemanha). A extração foi preparada em placas de 96 poços, sendo possível a extração de 24 amostras por placa, os reagentes foram distribuídos da seguinte maneira: 700 µL da solução AW1 em cada poço da 2ª coluna; 700 µL da solução AW2 em cada poço da 3ª coluna; 100 µL da solução de eluição (AVE) em cada poço da 4ª coluna. Em seguida, na primeira coluna foi colocado em cada poço: 20 µL de Proteinase K; 500 µL de solução XVL; 200 µL da amostra. Após a preparação, a placa foi colocada no equipamento para a realização da extração. Depois da conclusão, os DNAs extraídos (aproximadamente 100 µL), foram armazenados em microtubos e congelados a temperatura de -20 °C. Os reagentes utilizados na extração pertencem ao kit adquirido comercialmente da marca INDICAL (Indical Bioscience, Leipzig, Alemanha). A concentração e a pureza do DNA foram determinadas espectrofotometricamente a 260 e 280 nm (espectrofotômetro Jasco V-530, Jasco Inc, Tóquio, Japão). O DNA adquirido foi armazenado em microtubos e congelado a -20°C.

#### 4.2.5 *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus* (ERIC – PCR)

Para avaliar a relação genética dos isolados de *S. Heidelberg* foi utilizado o método ERIC-PCR de acordo com Versalovic et al. (1991). Cada reação de PCR foi feita para obter um volume final de 25 µL, contendo: 2,5 µL de tampão (10x); 2,0 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 mmol); 2,0 µL de dNTP (2,5 mmol); 1,5 µl de primer ERIC 2 (10 pmol) (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'); 1,0 µL de Taq DNA polimerase (5 U/µL); 14,0 µL de água destilada e 2,0 µL do DNA extraído da amostra. A reação de PCR foi realizada através de um termociclador (Bio-Rad, T100 Thermal Cycler) com a seguinte programação:

desnaturação inicial de 94 °C por 5 min seguida de 30 ciclos de 94 °C por 1 min, anelamento a 52 °C por 1 min e extensão a 72 °C por 8 min, com uma extensão final de 72 °C por 16 min. Água destilada foi utilizada como controle negativo. O DNA amplificado foi submetido a eletroforese em gel de agarose a 1,5% (p/v) corados com azul de bromofenol, junto com o marcador de DNA de 1 kb. A corrida foi realizada em cuba horizontal de eletroforese a 100 V por 2 horas em tampão TBE (tris/borato/EDTA). O gel foi corado com brometo de etídio 0,8% (v/v) e a imagem capturada com o aparelho LPix Image (Loccus Biotecnologia, Cotia, SP, Brasil). O *software* BioNumerics™ 7.6 (Applied Maths-bioMérieux, Sint-Martens-Latem, Bélgica) foi usado para a construção e agrupamento do dendrograma, com base no coeficiente de similaridade de Dice baseado em bandas e no Método *Unweighted Pair Group Using Arithmetic Averages* (UPGMA). Os isolados foram considerados clonalmente relacionados quando o coeficiente de similaridade foi  $\geq 90\%$ .

#### 4.2.6 Sequenciamento do genoma completo

A partir dos resultados do antibiograma e ERIC-PCR foram sequenciadas 13 isolados. As amostras de DNA foram sequenciadas na empresa Neopropecta (Florianópolis, SC, Brasil). As bibliotecas foram preparadas com um kit Nextera® XT (Illumina, Inc., San Diego, CA, EUA) e quantificadas com Kapa Library Quantification (Roche Sequencing Solutions, Inc., CA, EUA) de acordo com as recomendações do fabricante. O sistema Illumina MiSeq® (Illumina) foi usado para gerar leituras brutas com base em 300 ciclos, sequenciamento de extremidade pareada ( $2 \times 150$  bp leituras) e 500 ciclos, sequenciamento de extremidade pareada ( $2 \times 250$  bp de leitura). Os *reads* foram montadas com o OneShotWGS (Neopropecta), um *pipeline* que considera uma análise inicial nos *softwares* A5 e Spades (Kmer 21, 33, 55, 77, 99 e 127) (Coil et al., 2015). Em seguida, as melhores montagens foram submetidas à análise no GMCloser para melhorar os resultados, por meio de processamento para ajuste de adaptadores, filtragem de qualidade e correção de erros para gerar *contigs* e *scaffolds* (Tritt et al., 2012). A qualidade de todas as sequências foi avaliada pelo QUASt e as leituras com escores de PHRED abaixo de 20 foram descartadas (Huang & Madan, 1999). As sequências obtidas serão depositadas no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI, Bethesda, MD, EUA). Os *scaffolds* foram anotados usando Prokka v.1.12

#### 4.2.7 Identificação *in silico* de genes de resistência a antibióticos

Para a identificação dos genes de resistência, genomas montados foram usados como entrada para ResFinder v4.1 (Bortolaia et al., 2020) e *Resistance Gene Identifier* (RGI) v5.2.0 (Alcock et al., 2019). Os alinhadores locais para ResFinder e RGI foram BLAST+ v2.9.0 (Camacho et al., 2009) e DIAMOND v0.8.36.98 (Buchfink et al., 2021), respectivamente. O ResFinder foi executado para genes de resistência adquiridos com limiares de 0,6 e 0,8 para cobertura e identidade. Os resultados de previsão do ResFinder e RGI foram relacionados por ID do gene para agrupar o mecanismo de resistência e o fenótipo associado de cada gene. *Heatmaps* foram criados com *pheatmap* v1.0.12 usando R v4.1.2.

#### 4.2.8 Testes de antagonismo por BAL

O teste de antagonismo de BAL frente as cepas de *S. Heidelberg* foi realizado através do método de difusão em ágar. Para isso, as cepas selecionadas a partir do resultado obtido nos antibiogramas e na análise de ERIC-PCR, foram suspensas em caldo BHI e incubadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ , até atingir a turbidez 0,5 da escala Mc Farland. Quando necessário, foi realizado o ajuste da turbidez. Para espalhamento em ágar Mueller Hinton, um *swab* estéril foi embebido na cultura. As cepas de BAL, estocadas em glicerol, foram reativadas em caldo MRS e incubadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 18 – 24 h. Poços com 6 mm de diâmetro foram perfurados no ágar e preenchidos com 50  $\mu\text{L}$  da suspensão de BAL. As placas foram incubadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 18 – 24 h. A atividade antimicrobiana foi determinada através do halo de inibição formado. Zonas de inibição de mais de 20 mm, 10 a 20 mm e menos de 10 mm foram consideradas como fortes, intermediárias e baixas inibições, respectivamente (SHOKRYAZDAN, 2014).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS

Os resultados obtidos a partir da realização dos antibiogramas (Tabela 1) mostram que todas as amostras testadas foram resistentes a sulfonamida e apenas uma (0,76%) foi sensível a tetraciclina, mostrando que esses antibióticos não são eficazes frente as cepas de *S. Heidelberg* utilizadas nesse estudo. Akbar e Anal (2013), também encontraram alta resistência (72,72%) a tetraciclina em amostras de *Salmonella* isoladas de carne de aves. Outro estudo realizado por Bacci et al. (2012), também encontrou 86% e 60% de resistência a tetraciclina em amostras de carcaças e carne de frangos respectivamente, nesse mesmo estudo todas as amostras foram







Antibiótico	AMX	KAN	EFT	ENR	FOS	CN	LSP	NEO	NOR	SUL	TET
Isolados											
123	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
124	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
125	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
126	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
127	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
128	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
129	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R
130	R	S	I	S	S	S	S	S	S	R	R

AMX: Amoxicilina. KAN: Canamicina. EFT: Ceftiofur. ENR: Enrofloxacin. FOS: Fosfomicina. CN: gentamicina. LSP: Lincomicina + espectinomicina. NEO: Neomicina. NOR: Norfloxacin. SUL: Sulfonamidas. TET: Tetraciclina. R: Resistente. I: Intermediário. S: sensível.

Silva et al. (2014), encontraram 58,8% de resistência para sulfonamida em amostras de *Salmonella* spp. isoladas de carne e fezes de frango e fezes humanas. Ainda de acordo com os resultados obtidos no presente estudo, Zottola et al. (2013) encontraram o maior percentual de resistência para sulfonamida ao avaliar a susceptibilidade antimicrobiana de 499 cepas de *Salmonella* isoladas de javali.

Em relação a amoxicilina, 70 isolados apresentaram resistência (53,85%), resultado maior do que estudos anteriores realizados por Marrero-Ortiz et al. (2012) que encontraram 33% de resistência a amoxicilina em cepas de *Salmonella* de diversos sorovares isoladas de fezes de gado, e nenhuma resistência a gentamicina. Li et al. (2020) encontraram 52,2% de resistência a amoxicilina/ácido clavulânico em cepas de *Salmonella* de diversos sorovares isoladas de carcaças de frango cru, e baixa resistência a gentamicina (28,6%) e também por Gebremedhin et al. (2021), que relataram 30% de cepas resistentes a amoxicilina, oriundas de carne bovina.

Em um estudo realizado por Nadi et al. (2020), com amostras isoladas de pacientes com infecção alimentar ocasionada por *Salmonella*, uma amostra de *Salmonella* Enteritidis (4,8%), foi sensível a ceftriaxona que é uma cefalosporina de terceira geração muito utilizada no tratamento de salmonelose em humanos. A resistência a esse antibiótico indica o uso extensivo desse medicamento, o que pode ameaçar o tratamento de casos graves de infecções por *Salmonella*. No presente estudo foi identificada uma resistência de 6% ao ceftiofur que também é uma cefalosporina de terceira geração e possui mecanismos comuns de resistência com a ceftriaxona, porém utilizado na medicina veterinária. Esse resultado confirma a hipótese que o uso de ceftiofur em aves está contribuindo para a resistência de cefalosporina de terceira geração em infecções humanas por *S. Heidelberg* (DUTIL et al., 2010). A resistência às fluoroquinolonas testadas nesse estudo (enrofloxacin e norfloxacin) foi baixa, apenas um



isolado apresentou resistência à norfloxacin. Bounar-Kechih et al. (2012) não encontraram resistência a fluoroquinolonas em 100 cepas de *Salmonella* de diferentes sorovares isoladas em aves. Isso pode ser justificado pelo fato de estes antibióticos não serem comumente utilizados em aves de corte, pois alguns mercados externos não aceitam resíduos de tais medicamentos, a administração desses fármacos dificultaria a exportação das aves.

Os resultados mostram que das 130 cepas testadas, 12 (9,2%) foram resistentes a 4 classes de antibióticos dos 11 testados. Sendo as 12 consideradas MDR (cepa multidroga resistente), resistentes a um ou mais antimicrobianos de três ou mais classes testadas, conforme estabelecido pelo CLSI. Os perfis de MDR foram AMX-EFT-SUL-TET para sete isolados e AMX-LSP-SUL-TET para cinco. Um estudo realizado por Gieraltowski et al. (2016), com cepas de *Salmonella* Heidelberg isoladas de um surto alimentar relacionado com uma empresa avícola nos Estados Unidos, no qual 635 pacientes foram identificados com a infecção e 38% foram hospitalizados, após análise de resistência a antibióticos, concluíram que 35% dos isolados eram cepas consideradas MDR. Outro estudo conduzido por Medalla et al. (2013), obteve 3.247 (13%) cepas MDR de *Salmonella* originárias de infecções alimentares, sendo que destas, *S. Heidelberg* estava entre os 3 sorotipos que mais apresentam cepas MDR. A resistência antimicrobiana é uma ameaça a saúde pública e foi associada a quase 5 milhões de mortes em 2019. A resistência a antibióticos afeta não somente os seres humanos, mas também a indústria de alimentos, tornando-se um dos problemas de saúde mais urgentes do mundo. Quando um antibiótico perde a sua eficácia, algumas infecções podem ficar sem opções de medicamentos, diminuindo a capacidade de tratamento de controle dessas enfermidades (CDC, 2021).

Em uma metanálise realizada para avaliar o perfil e evolução da resistência antimicrobiana de *Salmonella* de origem humana e avícola no Brasil isoladas entre o período de 1995 e 2014, foi verificado que as maiores resistências antimicrobianas em isoladas de origem avícola foram para sulfonamidas (44,3%), ácido nalidíxico (42,5%) e tetraciclina (35,5%). Nos isolados de origem humana, as maiores resistências verificadas foram para sulfonamidas (46,4%), tetraciclina (36,9%) e ampicilina (23,6%). Esses resultados demonstram a importância de monitorar o desenvolvimento de resistência antimicrobiana em toda a cadeia de produção de alimentos até a saúde humana, pois a obtenção de informações pode ajudar a avaliar e prevenir as consequências geradas por cepas resistentes (GUINEY E FIERER, 2011).

Vale salientar que o processo de resistência a antibióticos ocorre como qualquer processo natural de seleção em microrganismos. Porém, o aumento do uso dessas substâncias nos ambientes hospitalares e na produção animal, assim como práticas de automedicação, consumo

de produtos de origem animal, disseminação de microrganismos resistentes e de antimicrobianos no ambiente, associado a diminuição no desenvolvimento de novos antimicrobianos, vem tornando esse assunto um problema de saúde pública, pois o uso de antibióticos acelera o surgimento de resistência (IWU et al., 2016; LIMA et al., 2016; SIRIKEN et al., 2015).

## 5.2 ERIC – PCR

A ERIC são sequências repetitivas de consenso extragênicas conservadas não codificante de 126 pb de comprimento, encontradas em diferentes locais dentro de um genoma. Essas sequências foram observadas pela primeira vez no genoma de uma cepa de *E. coli*, porém estudos posteriores demonstraram ser presente também em *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Erwinia*, *Photobacterium*, *Vibrio*, *Pseudomonas* e *Bacillus*. A amplificação do DNA por PCR usando sequências ERIC como sequência alvo resulta em tamanhos de bandas diferentes, produzindo perfis de banda únicos (VERSALOVIC et al., 1991; WEI et al., 2011).

Diversos métodos de tipagem molecular são usados para estudos epidemiológicos. Esses métodos fornecem informações específicas sobre o parentesco genético das cepas bacterianas e auxiliam no rastreamento das fontes de infecção. A ERIC-PCR é uma ferramenta simples, altamente confiável, econômica e poderosa para estudar a relação genética de diferentes origens (OLTRAMARI et al., 2014; SABAT et al., 2013).

No dendrograma (Figura 3) gerado a partir dos resultados de ERIC-PCR foi possível observar que 99 isolados (80%), dentre os 124 tipificados por essa técnica, apresentaram similaridade acima de 90%, distribuídos em 27 grupos. Após repetidas tentativas, seis isolados foram considerados não-tipificáveis pela técnica empregada no presente estudo. Três agrupamentos se destacam por compreender uma maior quantidade de isolados (15, 9 e 8 isolados em cada grupo) obtidos em diferentes datas e municípios, sendo alguns pertencentes a mesma granja (como as duplas 9 e 10; 13 e 14), enquanto outros não (como por exemplo 18; 29; 75).

Figura 1. Dendrograma da análise de 124 isolados de *S. Heidelberg*.

AMX: Amoxicilina. KAN: Canamicina. EFT: Ceftiofur. ENR: Enrofloxacin. FOS: Fosfomicina. CN: gentamicina. LSP: Lincomicina + espectinomicina. NEO: Neomicina. NOR: Norfloxacin. SUL: Sulfonamidas. TET: Tetraciclina. Na cor preta: amostras resistentes aos antibióticos testados. Cor cinza:

amostras intermediárias aos antibióticos testados. Cor cinza claro: amostras sensíveis aos antibióticos testados.

Fardsanei et al. (2016) também utilizaram a ERIC-PCR para analisar isolados de *Salmonella* Enteritidis e encontraram 76% das amostras em um grande agrupamento (95% de similaridade), enquanto sete cepas restantes foram classificadas em dois agrupamentos distintos. Em outro estudo com *Salmonella* de diferentes sorovares isoladas de vegetais, solo e água de irrigação, os padrões observados no dendrograma, demonstraram semelhanças entre as cepas de *Salmonella*, porém também algumas diversidades. O maior *cluster* apresentou uma similaridade acima de 82% mostrando uma alta relação genética entre os isolados (ABAKPA et al., 2015). Os resultados do presente estudo também demonstraram haver similaridade entre diversos isolados obtidos em regiões geográficas e momentos distintos, demonstrando a capacidade de disseminação de *S. Heidelberg* pela cadeia produtora de carne de origem aviária.

Isolados clonais apresentando o mesmo perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, provenientes de amostras coletadas em um mesmo produtor, porém de datas distintas, podem ser verificados nas duplas de isolados 22 e 105; 86 e 87 e 39 e 40. Isto demonstra que tais microrganismos podem ter permanecido no local mesmo após a sanitização completa da respectiva granja, indicando que a sanitização realizada pode não ter sido eficaz frente às cepas de *S. Heidelberg* estudadas.

Isolados com 100% de similaridade também foram observados (Figura 1), porém com resultados diferentes para resistência a antibióticos, como nos isolados clonais 10, 13, 14, 18, 29 e 108. Esse mesmo grupo é composto de amostras coletadas em diferentes municípios, sendo que duas delas (13 e 14) pertencem à amostras coletadas na granja de um mesmo produtor em lotes diferentes (setembro 2019 e novembro 2019, respectivamente). Já as duplas de isolados 9 e 15; 27 e 28; e 107 e 111, que apresentaram 100% de similaridade e o mesmo perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, foram provenientes de amostras coletadas em diferentes municípios e datas, sugerindo a capacidade de disseminação desse patógeno. Marrero-Ortiz et al. (2012) também constataram que isolados de *Salmonella* possuindo resistência a múltiplas drogas, muitas vezes ficaram agrupadas em grupos distintos quando submetidos a ERIC-PCR. Entretanto, os resultados também reforçam a plausibilidade de disseminação de determinadas cepas de *S. Heidelberg* pela cadeia produtoras de aves.

### 5.3 TESTE DE ANTAGONISMO POR BAL

Após análise dos resultados dos antibiogramas e ERIC-PCR, foram escolhidos 13 isolados que representam os diferentes clusters e perfis de resistência a antibióticos para o teste de antagonismo com BAL e sequenciamento do genoma completo para análise dos genes de resistência (Tabela 2).

Tabela 2. Cepas selecionadas para o teste de antagonismo e sequenciamento completo.

Amostra	Origem
2	Nova Trento – SC
3	Mafra-SC
11	Rio Negro-PR
37	São José dos Pinhais-PR
52	Lapa-PR
60	Lapa-PR
68	Jaragua do Sul-SC
80	Lapa-PR
89	Rio Negro-PR
101	Lapa-PR
109	Mandirituba-PR
113	Lapa-PR
129	Rio Negro-PR

O resultado do teste de antagonismo com as BAL (Quadro 2) sugere que essas bactérias podem inibir o crescimento das cepas de *S. Heidelberg*. Os halos de inibição formados variaram entre 8 – 12 mm, sendo classificado como fracos a intermediários. A BAL que conseguiu formar halo de inibição na maior extensão contra *S. Heidelberg* foi a cepa de *Limosilactobacillus fermentum* (LBP UFSC 017), seguida por *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei* (LBP UFSC 014), conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Halo de inibição formado no teste de antagonismo de *S. Heidelberg* com BAL.

Cepa Isolados	Cepa									
	001	013	014	017	018	019	021	022	024	025
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	10	9	0	0	0	0	0	0
11	0	0	10	8	0	0	10	0	0	0
37	0	0	0	11	0	0	0	0	8	0

52	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0
60	0	0	11	12	0	0	0	0	0	0
68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	8	10	0	0	9	0	0	0
89	0	0	10	9	0	0	0	0	0	0
101	0	0	10	11	0	0	0	0	11	0
109	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0
113	9	8	9	0	7	0	0	0	0	0
129	0	0	10	9	0	0	0	8	9	0

Isolados e seus respectivos halos de inibição em milímetros. 001: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; 013: *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei*; 014: *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei*; 017: *Limosilactobacillus fermentum*; 018: *Lactobacillus acidophilus*; 019: *Lacticaseibacillus casei*; 021: *Lactiplantibacillus plantarum*; 022: *Lactilactobacillus sakei*; 024: *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei*; 025: *Streptococcus thermophilus*.

As BAL são as cepas mais representativas entre probióticos e desempenham um papel importante na saúde e na produção animal, devido aos seus efeitos benéficos na manutenção do equilíbrio microbiano gastrointestinal, resistência a patógenos e capacidade de auxiliar o sistema imunológico (ADETOYE, 2018; ALLEN, 2013). O uso excessivo de antibióticos na pecuária e na indústria associado ao desenvolvimento de resistência bacteriana a antibióticos chamaram atenção significativa para o estudo de BAL. As BAL têm potencial promissor para serem usados como substitutos de antibióticos contra infecções por patógenos intestinais (AFOLAYAN, 2017).

Estudos já demonstraram que BAL podem ter efeito antagonista frente a cepas de *Salmonella*. Abdel-Daim et al. (2013) demonstraram que cepas de *Lactiplantibacillus plantarum* podem prevenir a infecção causada por *Salmonella* Typhi através da inibição do crescimento e interferindo também nas propriedades de virulência (aderência, invasão e citotoxicidade) desse patógeno. Goksel et al. (2022) conseguiram inibir completamente a formação de biofilme de cepas de *S. Typhimurium*, utilizando diferentes espécies de BAL.

Os resultados nas atividades antibacterianas por BAL, podem apresentar variação devido as características dos métodos utilizados, como por exemplo, diferença na contagem de colônias de BAL utilizado no método *Spot* (sobreposição de ágar) e a quantidade de cultura usada no método de difusão de poço em ágar (utilizado nesse estudo), assim como a atividade de bacteriocina presente no meio (LYAPPARAJ, 2013). Halder et al. (2017) encontraram melhor resultado utilizando o método *Spot* no teste de antagonismo por BAL frente a quatro

diferentes bactérias patogênicas de origem clínica, entre elas *S. Typhi*. Já Rahimifard et al. (2016) conseguiram inibir o crescimento de *S. Enteritidis* utilizando cepas de *Bifidobacterium* através de três metodologias diferentes (*spot*, difusão em poço e difusão em disco) para o antagonismo, obtendo resultado satisfatório em todos eles.

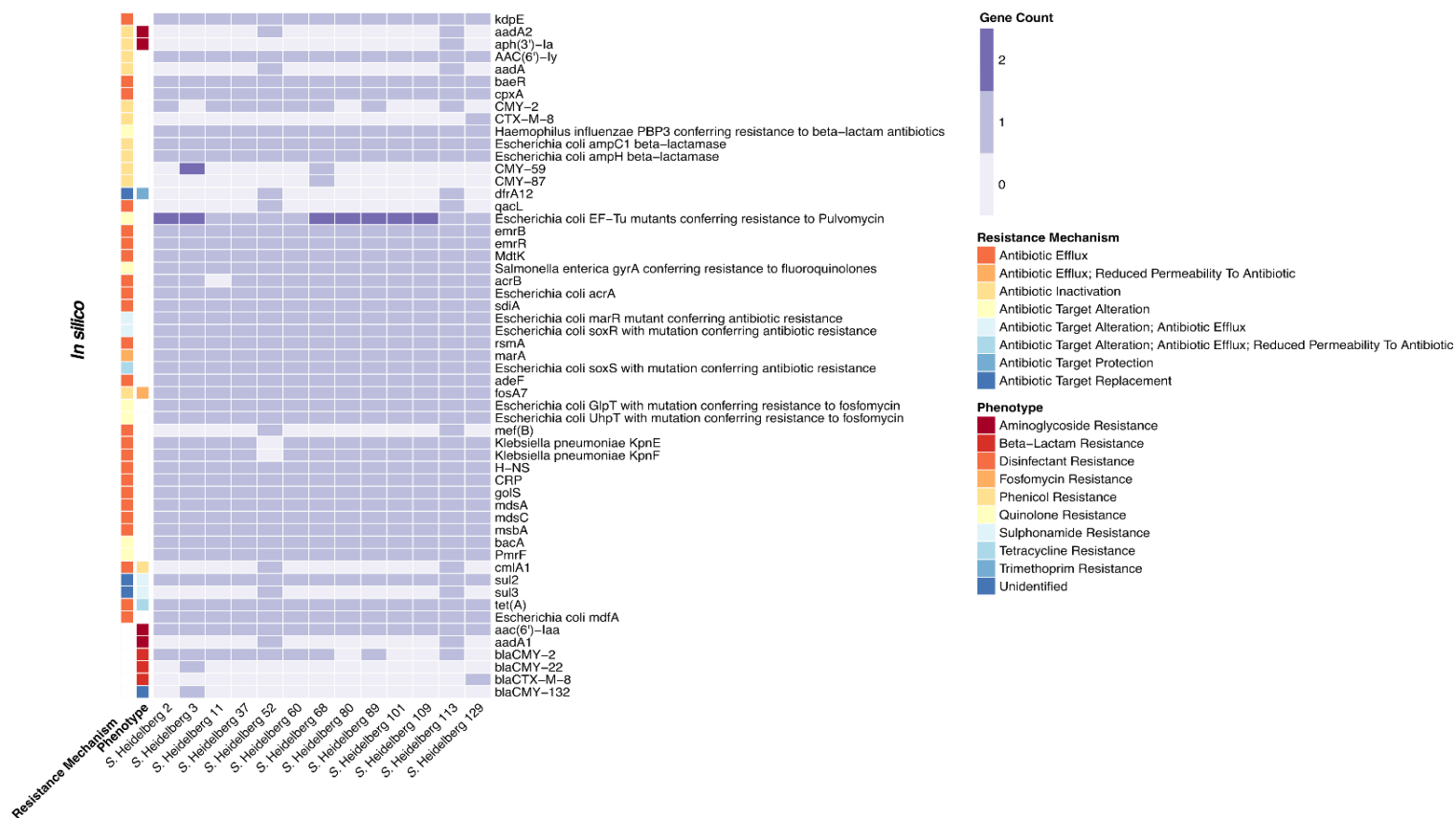
Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que cepas de BAL podem possuir efeito antagonista frente a isolados de *S. Heidelberg*, porém se faz necessário a aplicação de outras metodologias para confirmar esse potencial.

#### 5.4 GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS

O grau de patogenicidade de *Salmonella* spp. depende dos múltiplos genes de virulência e de resistência antimicrobiana que a bactéria possui (NADON et al., 2017). Atualmente, o WGS é usado para identificar rapidamente genes de resistência antimicrobiana, agrupamentos de genes, e mutações desses elementos genéticos em patógenos de origem alimentar (TAGG et al., 2018). Apesar de muitas técnicas de tipificação molecular serem utilizadas no campo da microbiologia para rastrear a origem de bactérias patogênicas, o WGS permite sorotipagem, resistência antimicrobiana, perfil de virulência e subtipagem em um único fluxo de trabalho com alta resolução (INNS et al., 2017). Ainda, esta técnica tem sido utilizada com sucesso no monitoramento e rastreabilidade da prevalência de *Salmonella* (ROUNDS et al., 2020). A tecnologia do WGS fornece alta resolução para rastrear surtos específicos causados por diferentes sorovares de *Salmonella* que apresentam alto grau de similaridade genética (DI MARCANTONIO et al., 2020; EFSA & ECDC, 2018).

A predição de genes usando o RGI e o ResFinder resultou na identificação de 66 genes de resistência (Figura 5). Entretanto, oito genes de resistência apresentaram resultado positivo em ambos os bancos de dados para as 13 cepas sequenciadas (Figura 6). Destacam-se os genes que conferem resistência à sulfonamida (*sul2*), à tetraciclina [*tet(A)*], e à fosfomicina (*fosA7*), presentes nas 13 cepas. Os perfis genotípico e fenotípico de resistência à sulfonamida e à tetraciclina foram concordantes, ao contrário do ocorrido com relação à fosfomicina que apresentou resistência genotípica, porém no teste fenotípico todas os 13 isolados foram sensíveis a fosfomicina.

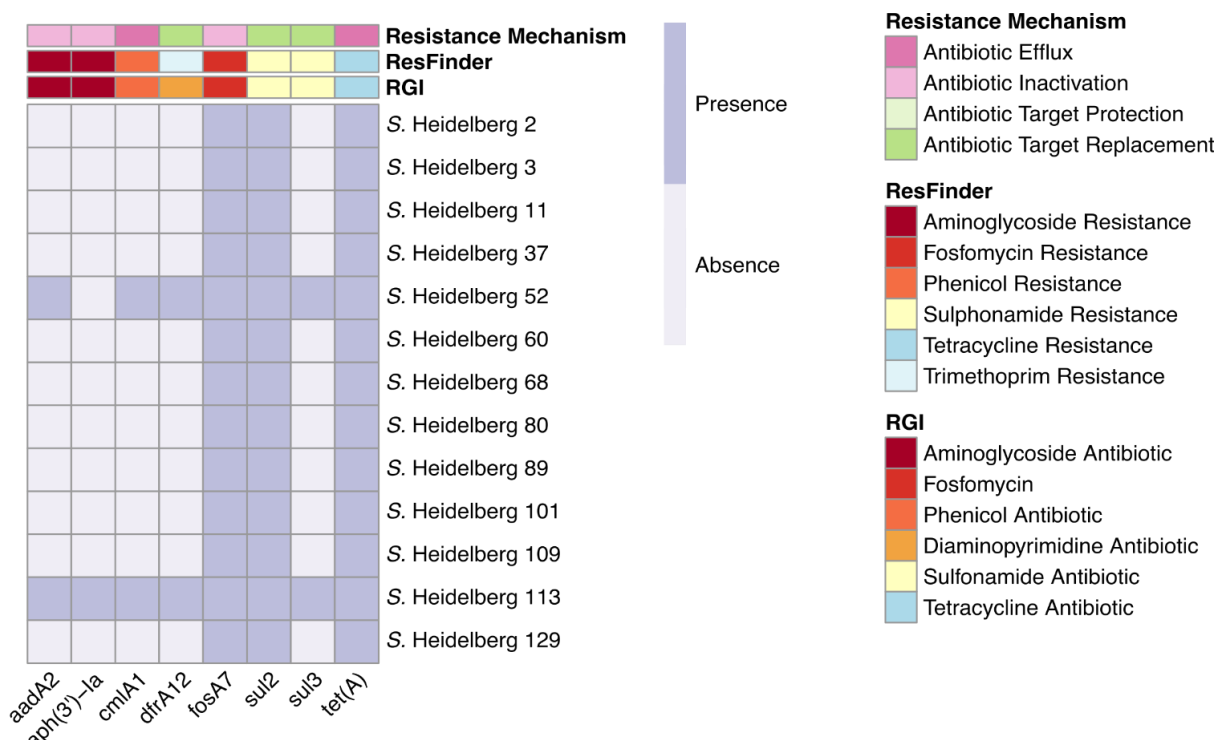
Figura 2. Perfis de resistência *in silico* para amostras de *Salmonella* Heidelberg.



A análise *in silico* retornou genes de resistência previstos pelo RGI - do Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD) - e pelo ResFinder. A contagem de genes mostra o número de ocorrências para o mesmo gene (linhas) encontrado em ambos os bancos de dados. A Classe de Drogas e o Mecanismo de Resistência referem-se aos resultados de RGI e Fenótipo às previsões do ResFinder.



Figura 3. Perfis de resistência *in silico* para amostras de *Salmonella* Heidelberg em ambos bancos de dados (RGI e ResFinder).



Colunas e linhas representam amostras de ID do gene e *Salmonella*, respectivamente. Previsões *in silico* foram feitas por RGI e ResFinder, e indicam a presença ou ausência de genes de resistência nas amostras. O Mecanismo de Resistência é fornecido pelo Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD).

Em uma meta-análise realizada por Voss-Rech et al. (2017) com *Salmonella* não tifoide de origem avícola no Brasil entre 1995 e 2015, foram encontradas altas frequências de resistência antimicrobiana para sulfomanidas (44,3%), ácido nalidíxico (42,5%), tetraciclina (35,6%), cefalotina (24,2%) e estreptomicina (22,5%). Wang et al. (2022) também encontraram o gene de resistência *tet(A)* em 87,2% de amostras de *Salmonella* Rissen isoladas de suínos. Nesse mesmo trabalho, os genes de resistência ao trimetoprim (*dfrA12*) e a aminoglicosídeos (*aadA2*) coexistiram em 24 isolados. Da mesma forma, no presente estudo, esses dois genes também coexistiram em duas das 13 amostras sequenciadas.

Em outro estudo com 143 isolados de *S. Typhimurium*, Enteritidis e Heidelberg em amostras de ovos e frango, as maiores frequências de genes de resistência encontrados foram contra aminoglicosídeos (70,63%), tetraciclina (26,57%), fosfomicina (25,17%), sulfonamidas (23,78%) e  $\beta$ -lactamases (15,38%). O gene mais frequente foram variantes de *aadA* em 95 dos isolados, seguido por *fosA*, em 36 isolados, *tet(A)*, em 32 isolados, e *sul2*, em 27 isolados.

Ainda, nesse mesmo estudo, os genes mais prevalentes em isolados de *S. Heidelberg* foram *aadA* e *fosA* (HU et al., 2020).

Embora o gene *fosA7* tenha sido observado em todas as 13 amostras na previsão *in silico*, o teste de antibiograma não demonstrou resistência. *fosA* são genes amplamente distribuídos nos genomas de bactérias Gram-negativas, particularmente naquelas pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (ITO et al., 2017). O gene *fosA7* é um gene de resistência detectado recentemente, pela primeira vez, em *S. Heidelberg* isoladas de frango de corte no Canadá (REHMAN et al., 2017). Piras et al. (2021) identificaram o gene *fosA7* em 100% dos isolados de *S. Derby* e *Agona* que foram resistentes também no teste fenotípico à fosfomicina. Em um estudo de Soares et al. (2019) foi encontrado este mesmo gene em todas as cepas de *S. Heidelberg* isoladas de aves entre os anos de 2009 e 2013. Outro fato interessante a ser observado é que em todas as 13 cepas que tiveram o genoma sequenciado também apresentaram mutações nas proteínas UhpT e GlpT (Figura 5) que seriam responsáveis pelo fenótipo de resistência à fosfomicina.

Zwe et al. (2020) encontraram resistência fenotípica sem determinante de resistência genética para fosfomicina em isolado de *S. Stanley*, possivelmente explicado pela heterorresistência da *Salmonella*. Na maioria das vezes, a resistência se expressa em todas as células da população bacteriana. Porém, em alguns casos, o fenótipo de resistência é expresso apenas por algumas células de uma população bacteriana clonal (fenômeno denominado heterorresistência). Essa subpopulação pode ser o resultado de raros mutantes resistentes que aumentam em frequência ao longo do tempo, ou das subpopulações distintas (sensível e resistentes) que alternam fenotipicamente mesmo na ausência de antibióticos (BAKKAREN et al, 2020). A subpopulação, aparentemente isogênica, pode exibir uma gama de sensibilidade a um antimicrobiano específico. A bactéria pode possuir o gene relacionado à resistência, mas nem todas o expressam fenotipicamente da mesma maneira (EL-HALFAWY e VALVANO, 2015).

A resistência fenotípica à amoxicilina também foi observada em 10 das 13 cepas sequenciadas, mostrando concordância com a análise *in silico*. Esses 10 genomas apresentaram alguma variante do gene *bla<sub>CMY</sub>* ou o gene *bla<sub>CTX-M-8</sub>*. Além disso, a presença desses genes explica a resistência ao ceftiofur detectada pelo teste fenotípico. Entretanto, outras cepas que também apresentaram esses genes não expressaram resistência a este antibiótico específico, fato que, novamente, poderia ser explicado pelo fenômeno de heterorresistência.

Também é interessante observar algumas outras discordâncias entre genótipos e fenótipos de resistência. Foram preditos diferentes genes que conferem resistência a

aminoglicosídeos, especialmente *aac(6')-Iaa*, presente nos 13 genomas, mas somente o isolado 101 apresentou resistência à gentamicina, e todos se mostraram sensíveis à canamicina e à neomicina. Mutação no gene *gyrA* responsável pela resistência às fluoroquinolonas foi predita em todos os genomas, mas somente o isolado 80 foi resistente à norfloxacin. Além deste, mais três outros apresentarem resistência intermediária (2, 80 e 109) à enrofloxacin (Tabela 1).

Outros genes preditos na análise *in silico*, *drfA12*, *qacL*, *ermB/R* e *mef(B)*, *bacA*, e *cmIA1*, que conferem resistência à trimetoprima, a quaternários de amônio, a macrolídeo, à bacitracina, e a fenicóis, respectivamente, nenhum desses antimicrobianos/sanitizantes foi testado fenotipicamente. Os sanitizantes utilizados na desinfecção das granjas geralmente são compostos de amônia quaternária e glutaraldeído. Então, a presença de *qacL* confirma a manutenção de isolados resistentes aos desinfetantes na cadeia produtora de aves após a sanitização de granjas que ocorre entre diferentes lotes de animais, como discutido anteriormente. Compostos de amônio quaternário são comumente usados como sanitizantes em ambientes de processamento de alimentos com o objetivo de aumentar a segurança microbiológica. Porém, o uso inadequado desses sanitizantes, como o enxague insuficiente após a desinfecção ou dosagem inadequada, pode levar ao desenvolvimento de resistência bacteriana. Por isso, é importante o monitoramento de cepas resistentes a esses desinfetantes e a identificação dos meios de transferências dos determinantes de resistência (MULLER et al., 2013). Além disso, outros genes preditos conferem resistência a diversos antibióticos inespecíficos, como *cpxA*, *mdtK*, *sdiA*, *acrA/B*, *marA/R*, *soxR*, *rsmA*, *adeF*, *mdsA/C*, *msbA* e *mdfA*, ou resistência a sais de ouro (*golS*). Diversos desses genes codificam proteínas que auxiliam na resistência a diferentes tipos de antimicrobianos conjuntamente com via bombas de efluxo, o que também corrobora com a persistência de determinadas cepas em granjas mesmo após os procedimentos de sanitização.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram, para grande parte das cepas de *S. Heidelberg* testadas, resistência a antibióticos, correlacionando os testes experimentais com os genes de resistência encontrados na análise *in silico*. Levando em consideração que a carne de frango é uma das carnes mais consumidas no mundo, esses dados podem ajudar a mapear a origem e tendências da resistência antimicrobiana. A alta frequência de resistência a alguns antibióticos e a identificação de cepas MDR indica a consequência do mau uso desses fármacos ao longo dos anos. Devido à preocupação em reduzir o uso de antibióticos na produção animal, a utilização de BAL na avicultura pode ser uma opção para aplicação concomitante com a sanitização das granjas ou adicionadas na ração animal com o objetivo de reduzir a contaminação por *Salmonella* no trato gastrointestinal. O teste *in vitro* de antagonismo com BAL demonstrou que essas bactérias têm potencial para inibir o desenvolvimento de cepas de *S. Heidelberg*, porém é necessário aplicar diferentes metodologias para comprovar essa hipótese. Assim, se faz necessário traçar novas estratégias para o controle da *Salmonella* spp., bem como alternativas para a substituição do uso de antimicrobianos, trabalhando tanto na sanitização das granjas e abatedouros a fim de minimizar a contaminação, quanto no controle da utilização de antibióticos.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAKPA, G.O., UMOH, V.J, AMEH, J.B., YAKUBU, S.E., KWAGA, J.K.P, KAMARUZAMAN, S. Diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolated from fresh produce and environmental samples. **Environmental Nanotechnology, monitoring and Management**, v. 3, p. 38-46, 2015.

ABDEL-DAIM, A., HASSOUNA, N., HAFEZ, M., ASHOR, M.S.A., ABOULWAFI, M.M. Antagonistic activity of *Lactobacillus* isolates Against *Salmonella* tiphy in vitro. **BioMed Research International**, p. 1-12, 2013.

ABRIOUEL, H., BENOMAR, N., COBO, A., CABALLERO, N., FUENTES, M.A.F., PÉREZ-PULIDO, R., GÁLVEZ, A. Characterization of Lactic Acid Bacteria from naturally-fermented Manzanilla Aloreña green table olives. **Food Microbiology**, v. 32, p. 308-316, 2012.

ADETOYE, A. PINLOCHE, E., ADENIYI, B.A., AYENI, F.A. Characterization and anti-*salmonella* activities of lactic acid bacteria isolated from cattle faeces. **BMC Microbiology**, v. 18, 2018.

AFOLAYAN, A.O., AYENI, F.A., RUPPITSCH, W. Antagonistic and quantitative assessment of indigenous lactic acid bacteria in diferente varieties of ogi Against gastrointestinal pathogens. **The Pan African Medical Journal**, v. 27, p. 22, 2017.

AKBAR, A., ANAL, A.K. Prevalence and antibiograma study of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, p. 163-168, 2013.

ALCOCK, B.P., RAPHENYA, A.R., LAU, T.T.Y., TSANG, K.K., BOUCHARD, M., EDALATMAND, A., HUYNH, W., NGUYEN, A.L.V., CHENG, A.A., LIU, S., MIN, S.Y., MIROSHNICHENKO, A., TRAN, H.K., WERFALLI, R.E., NASIR, J.A., OLONI, M. et al. CARD 2020: antibiotic resistance surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. **Nucleic Acids Research**, v. 48, p. D517-D525, 2020.

ALLARD, M.W., LUO, Y., STRAIN, E., LI, C., KEYS, C.E., SON, I., BROWN, E.W. High resolution clusterinf of *Salmonella enterica* serovar Montevideo strains using a nest-generation sequencing approach. **BMC Genomics**, v. 13, p.1, 2012.

ALLEN, H.K., LEVINE, U.Y., LOOFT, T., BANDRICK, M., CASEY, T.A. Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. **Trends Microbiology**, v. 21, p. 114-119, 2013.

AL NABUSI, A.A., OLAIMAT, A.N., OSAILI, T.M., SHAKER, R.R., ZEIN, E.N., JARADAT, Z.N., ABUSHELAIBI, A., HOLLEY, R.A. Use of acetic and citric acids to control *Salmonella* Typhimurium in tahini (sesame paste). **Food Microbiology**, v. 42, p. 102-108, 2014.

ANVISA, Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resistencia microbiana: mecanismos e impacto clínico.  
[https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo3/mecanismos.htm](https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mecanismos.htm) acesso em 10/08/2021.

ARSENAULT, J., LETELLIER, A., QUESSY S., BOULIANNE, M. Prevalence and risk factors for *salmonella* and *campylobacter* spp. carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada. **Journal of Food Protection**, v. 70, p. 1820-1828, 2007.

ASLAM, B., KHURSHID, M., ARSHAD, M.I., MUZAMMIL, S., RASOOL, M., YASMEEN, N., SHAH, T., CHAUDHRT, T.H., RASSOL, M.H., SHAHID, A., XUESHAN, X., BALOCH, Z. Antibiotic resistance: One health One World Outlook. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, 2021.

BACCI, C., BONI, E., ALPIGIANI, I., LANZONI, E., BONARDI, S., BRINDANI, F. 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, p. 16-23, 2012.

BAERT, L., MCCLURE, P., WINKLER, A., KARN, J., BOUWKNEGT, M., KIJN, A. Guidance documento in the use of whole genome sequencing (WGS) for source tracking from a food industry perspective. **Food Control**, v. 130, p. 108-148, 2021.

BAKKAREN, E., DIARD, M. HARDT, W. Evolutionary causes and consequences of bacterial antibiotic persistence. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, p. 479-490, 2020.

BALLOUX, F., BRYNILDSDRUD, O.B., DORP, L., SHAW, L.P., CHEN, H., HARRIS, K.A., WANG, H., ELDHOLM, V. From theory to practice: translating whole-genome sequencing (WGS) into the clinic. **Trends in Microbiology**, v. 26, p. 1035-1048, 2018.

BARBOSA, T.M., LEVY, S.B. The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. **Drug Resistance Updates**, v.3, p. 303-311, 2000.

BARROW, P.A., JONES, M.A., SMITH, A.L., WIGLEY, P. The long view: *Salmonella* – the last forty years, **Avian Pathology**, v. 41, p.412-420, 2012.

BEAL, R.K., WIGLEY, P., POWERS, C., HULME, S.D., BARROW, P.A., SMITH, A.L. Age at primary infection with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the chicken influences persistence of infection and subsequent immunity to re-challenge. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v. 100, p. 151-164, 2004.

BORTOLAIA, V., KAAS, R.S., RUPPE, E., ROBERTS, M.C., SCHWARZ, S., CATTOIR, V., PHILIPPON, A., ALLESOE, R., REBELO, A.R., FLORENSA, A.F., FAGELHAUER, L., CHAKRABORTY, T., NEUMANN, B., WERNER, G., BENDER, J.K., STINGL, K., NGUYEN, M. et al. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 75, p. 3491-3500, 2020.

BOUNAR-KECHIH, S., HAMDY, T.M., MEZALI, L., ASSAOUS, F., RAHAL, K. Antimicrobial resistance of 100 *Salmonella* strains isolates from Gallus Gallus in 4 wilayas of Algeria. **Poultry Science**, v. 91, p. 1179-1185, 2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 126 de 03 de novembro de 1995**.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Revista Interlab**, n. 04, p.42, 2021.

BUCHFINK, B., REUTER, K., DROST, H.G. Sensitive protein alignments at tree-of-life scale using DIAMOND. **Nature Methods**, v. 18, p. 366-368, 2021.

BURNS, T.E., STEPHEN, C. Finding a place for systems-based, collaborative research in emerging disease research in Asia. **Eco Health**, v.12, p. 672-684, 2015.

CAETANO, F., PAGANO, M. Prevalência de infecções causadas por *Salmonella* sp. no Brasil no período de 2013 a 2017. **Journal of Infection Control**, v. 8, p.56-62, 2019.

CAMACHO, C., COULOURIS, G., AVAGYAN, V., MA, N., PAPADOPOULOS, J., BEALER, K., MADDEN, T. BLAST+: architecture and applications. **BMC bioinformatics**, v. 10, 2009.

CAP, M., PAREDES, P.F., FERNANDEZ, D., MOZGOVOJ, M., VAUDAGNA, S.R., RODRIGUEZ, A., Effect og high hydrostatic pressure on *Salmonella* spp inactivation and meat quality of frozen chicken breast. **LWT**, v. 118, 2020.

CDC, Antibiotic/antimicrobial resistance (AR/AMR), **Centers for Disease Control and Prevention**. <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html> (2021). Acesso em 26/06/2022.

CDC, Antibiotic Resistance Threats in the United States of America, **Centers for Disease Control and Prevention**, Atlanta, GA, USA, 2013.

CDC, **Centers for Disease Control and Prevention**. National antimicrobial resistance monitoring system for Enteric bacteria (NARMS): human isolates final report, 2015. Atlanta: The Centers, 2018.

CDC, *Salmonella*, **Centers for Disease Control and Prevention**. <https://www.cdc.gov/salmonella/>, acesso em 21/11/2021.

CHAMBERS J.R., GONG J. The intestinal microbiota and its modulation for *Salmonella* control in chickens. **Food Research International**, v. 44, p. 3149-3159, 2011.



CHANTZIARAS, I., BOYEN, F., CALLENS, B., DEWULF, J. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: A report on seven countries. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, V. 69, p. 827-834, 2014.

CHITTICK, P.; SULKA, A.; TAUXE, R.V.; FRY, A.M. Summary of National Reports of foodborn outbreaks of *Salmonella* Heidelberg infections in the United States: clues for disease prevention. **Journal of Food Protection**, v.69, n.5, p.1150-1153. 2006.

CLSI. Performance standarts for antimicrobial susceptibility testing. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. Wayne, PA, 2021.

COBURN, B., GRASSL, G.A., FINALY, B.B. *Salmonella*, the host and disease: a brief review. **Immunology and cell biology**, v. 85, p. 112-118, 2007.

COLLARD, J.M., PLACE, S., DENIS, O., RODRIGUEZ-VILLALOBOS, H., VRINTS, M., WEILL, F.X., BAUCHERON, S., CLOECKAERT, A., STRUELENS, M., BERTRAND, S. Travel-acquired salmonellosis due to *Salmonella* Kentucky resistant to ciprofloxacin, ceftriaxone and co-trimoxazole and associated with treatment failure. **Journal of antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, p. 190-192, 2007.

COTTER, P.D., ROSS, R.P., HILL, C. Bacteriocins—a viable alternative to antibiotics? **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 95-105, 2013.

CRONIN, G.M., RAULT, J.L., LESSONS, P.C. Lessons learned from past experiences with intensive livestock managment systems. **Revue Scientifique et technique**, v. 33, p. 139-151, 2014.

CRUMP, J.A., MEDALLA, F.M., JOYCE, K.W., KRUEGER, A.L., HOEKSTRA, R.M., WHICHARD, J.M., BARZILAY, E.J. Antimicrobial resistance among invasive nontyphoidal *Salmonella enterica* isolates in the United States: National antimicrobial resistance monitoring system, 1996 to 2007. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, p. 1148-1154, 2011.

CRUMP, J.A., SJOLUND-KARLSSON, M., GORDON, M.A., PARRY, C.M. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial

management of invasive *Salmonella* infections. **Clinical Microbiology**, v. 28, p. 907-937, 2015.

DANTAS, S.T.A., ROSSI, B.F., BONSAGLIA, E.C.R, CASTILHO, I.G., HERNANDES,R.T., FERNANDES JÚNIOR, A., RALL, V.L.M. Cross-contamination and biofilm formation by *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on various cutting boards. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, p. 81-85, 2018.

DAVIES, R.H., BRESLIN, M. Persistence of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 in the environment and arthropod vectors on an empty free-range chicken farm. **Environmental Microbiology**, v. 5, p. 79-84, 2003.

DEWI, G., NAIR, D.V.T., PEICHEL, C., JOHNSON, T.J., NOLL, S., JOHNY, A.K. Effect of lemongrass essential oil Against multidrug – resistant *Salmonella* Heidelberg and its attachment to Chicken skin and meat. **Poultry Science**, v. 100, p. 101-116, 2021.

DICKEL, E. L. Utilização da microbiologia convencional, reação em cadeia pela polimerase (PCR) e ensaio imunoenzimático (ELISA) no monitoramento de *Salmonella* em carcaças de frango para o controle higiênico–sanitário do processo de abate, 2004, f. 133. (Tese de Doutorado) em Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

DI MARCANTONIO, L., JANOWICZ, A., ZILLI, K., ROMANTINI, R., BILEI, S., PAGANICO, PERSIANI, T., DI DONATO, G., GIANNATALE, E. D. Genomic comparison of *Salmonella* Enteritidis strains isolated from laying hens and humans in the abruzzo region during 2018. **Pathogens**, v. 5, p. 349, 2020.

DUTIL L., IRWIN R., FINLEY R., NG L.K., AVERY B., BOERLIN P., BOURGAULT A.M., COLE L., DAIGNAULT D., DESRUISSEAU A., DEMCZUK W., HOANG L., HORSMAN G.B., ISMAIL J., JAMIESON F., MAKI A., PACAGNELLA A., PILLAI D.R. Ceftiofur resistance in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from chicken meat and humans, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, p. 48-54, 2010.

ECONOMOU, V., GOUSIA, P. Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. **Infection and Drug Resistance**, v. 1, p. 49-61, 2015.

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), K. Koutsoumanis, A. Allende, A. Alvarez-Ordóñez, D. Bolton, S. Bover-Cid, M. Chemaly, R. Davies, A. De Cesare, F. Hilbert, R. Lindqvist, M. Nauta, L. Peixe, G. Ru, M. Simmons, P. Skandamis, E. Suffredini, C. Jenkins, B. Malorny, A.S. Ribeiro Duarte, et al. Scientific Opinion on the whole genome sequencing and metagenomics for outbreak investigation, source attribution and risk assessment of food-borne microorganisms. **EFSA Journal**, v. 17, p. 78, 2019.

EFSA, ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). The European union one Health 2019 zoonoses report. **EFSA Journal**, v. 19, p. 6406, 2021.

EFSA, ECDC, Multi-country outbreak of *Salmonella* Agona infections possibly linked to ready-to-eat food., v. 15, p. EN-1465, 2018.

EL-HALFAWY, O.M., VALVANO, M.A. Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, p. 191-207, 2015.

FARDSANEI, F., NIKKHAHI, F., BAKHSHI, B., SALEHI, T.Z., TAMAI, I.A., DALLAL, M.M.S. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates from food and human samples by serotyping, antimicrobial resistance, plasmid profiling, (GTG)<sub>5</sub>-PCR and ERIC-PCR. **New Microbes and New Infection**, v. 14, p. 24-30, 2016.

FORSYTHE, S. J. Microbiologia da segurança dos alimentos. 2 ed. **Artmed**, Porto Alegre. 602 p., 2013.

FOUNOU, L.L., FOUNOU, R.C., ESSACK, S.Y. Antibiotic resistance in the food chain: a developing country – perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 23, 2016.

GAST, R.K. Serotype-specific and serotype-independent strategies for preharvest control of food-borne *Salmonella* in poultry. **Avian Diseases**, v. 51, p. 817-828, 2007.

GEBREMEDHIN, E.Z., SOBOKA, G.T., BORANA, B.M., MARAMI, L.M., SARBA, E.J., TADESE, N.D., AMBECHA, H.A. Prevalence, risk factors, and antibiogram of nontyphoidal *Salmonella* from beef in Ambo and Holeta Towns, Oromia region, Ethiopia. **International Journal of Microbiology**, v. 23, 2021.

GEORGES, S.O., BERNARDO, L.G., ANDRÉ, M.C.D.P.B., CAMPOS, M.R.H., BORGES, L.J. Ecofisiologia microbiana e micro-organismos contaminantes de linguiça suína e de frango do tipo frescal. **Boletim CEPPA**, v. 36, n. 1, 2019.

GIEDRAITIENĖ, A., VITKAUSKIENĖ, A., NAGINIENĖ, R., PAVILONIS, A. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. **Medicina**, v. 47, p. 137-146, 2011.

GIERALTOWSKI, L., HIGA, J., PERALTA, V., GREEN, A., SCHWENSOHN, C., ROSEN, H., LIBBY, T., KISSLER, B., MARSDEN-HAUG, N., BOOTH, H., KIMURA, A., GRASS, J., BICKNESE, A., TOLAR, B., DEFIBAUGH-CHAVEZ, S., WILLIAMS, I., WISE, M. National outbreak of multidrug resistant *Salmonella* Heidelberg infections linked to a single poultry company. **Plos One**, v. 11, 2016.

GLATZ, P., PYM, R. Poultry housing and management in developing countries. **Poultry Development Review (1st ed.)**, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy, p. 23-44, 2015.

GOKSEL, S., AKCELIK, N., OZDEMIR, C., AKCELIK, M. The effects of lactic acid bacteria on *Salmonella* biofilms. **Microbiology**, v. 91, p. 278-285, 2022.

GRIFFIS, C.L., OSAILI, T.M. Control of thermal meat processing. **Safety of Meat and Processed Meat**, p. 229-253, 2009.

GRIFFITHS, E., DOOLEY, D., GRAHAM, M., VAN DOMSELAAR, G., BRINKMAN, F.S.L., HSIANG, W.W.L. Context is everthing: harmonization of critical food microbiology descriptors and metadata for improved food safety and surveillance. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1068, 2017.

GUINEY, D.G., FIERER, J. The role of the *spv* genes in *Salmonella* pathogenesis. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, p.1-10, 2011.

HALDER, D., MANDAL, M., CHATTERJEE, S.S., PAL, N.K., MANDAL, S., Indigenous probiotic *Lactobacillus* isolates presenting antibiotic like activity Against human pathogenic bacteria. **Biomedicines**, v. 5, p. 31, 2017.

HAQUEA, M.A., WANGA, Y., SHENC, Z., LIA, X., SALEEMID, M.K., HEA, C. Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: a review. **Microbiology Pathogenesis**, v. 142, p. 95-104, 2020.

HERNANDO-AMADO, S., COQUE, T.M., BAQUERO, F., MARTINEZ, J.L. Defining and combating antibiotic resistance from one health and global health perspectives. **Nature Microbiology**, v. 4, p. 1432-1442, 2019.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS E.M.F. prevalence of *Salmonella* serovars isolated from birds in Brazil. **Brazilian Veterinary Research**, v.17, p.55-62, 1997.

HOLMES, A.H., MOORE, L.S.P., SUNDSFJORD, A., STEINBAKK, M., REGMI, S., KARKEY, A., GUERIN, P.J., PIDDOCK, L.J.V. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, v. 387, p. 176-187, 2016.

HUANG, L. Dynamic analysis of growth of *Salmonella* spp. in raw ground beef – Estimation of kinetic parameters, sensitivity analysis, and Markov Chain Monte Carlo simulation. **Food Control**, v. 108, 2020.

HU, L., CAO, G., BROWN, E.W., ALLARD, M.W., MA, L.M., KHAN, A.A., ZHANG, G. Antimicrobial resistance and related gene analysis of *Salmonella* from egg and Chicken sources by whole-genome sequencing. **Poultry Science**, v. 12, p. 7076-7083, 2020.

HUGENHOLTZ, J. The lactic acid bacterium as a cell factory for food ingredients production. **International Dairy Journal**. V. 18, p.466-475, 2008.

HUGHES, R.J. Relationship between digesta transit time and apparent metabolisable energy value of wheat in chickens. **British Poultry Science**, v. 49, p. 716-720, 2008.

INNS, T., ASHTON, P.M., HERRERA-LEON, S., LIGHTHILL, J., FOULKES, S., JOMBART, T., REHMAN, Y., FOX, A., DALLMAN, T., DE PINNA, E., BROWNING, L., COIA, J.E., EDEGHERE, O., VIVANCOS, R. Prospective use of whole genome sequencing (WGS) detected a multi-country outbreak of *Salmonella* Enteritidis. **Epidemiology and Infection**, v. 145, p. 289-298, 2017.

ITO, R., MUSTAPHA, M.M., TOMICH, A.D, CALLAGHAN, J.D., MCELHENY, C.L., METO, R.T., SHANKS, R.M.Q., SLUIS-CREMER, N., DOI, Y. Widespread fosfomycin resistance in Gram-negative bacteria attributable to the chromosomal fosA gene. **mBio**, v. 8, p. 749, 2017.

IWU, C.J., IWERIEBOR, B.C., OBI, L.C., BASSON, A.K., OKOH, A.I. Multidrug-resistant *Salmonella* isolates from swine in the Eastern Cape Province, South Africa. **Journal of Food Protection**, v. 79, p, 1-9, 2016.

KAGAMBEGA, A., LIENEMANN, T., AULU, L., TRAORÉ, A.S., BARRO, N., SIITONEN, A., HAUKKA, K. Prevalence and characterization of *Salmonella* enterica from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates. **BMC Microbiology**, v. 13, p. 253, 2013.

KHACHATRYAN, L, LEEUW, R.H., KRAAKMANN, M.E.M., PAPPAS, N., RAA, M., MEI, H., KNIJFF, P., LAROS, J.F.J. Taxonomic classification and abundance estimation using 16S and WGS-A comparison using controlled reference samples. **Forensic Science International: Genetics**, v. 46, p. 102, 2020.

KUMAR S.G., ADITHAN C., HARISH B.N., SUJATHA S., GAUTAM ROY, M. Antimicrobial resistance in India: A review. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, V.4, p. 286-291, 2013.

LAXMINARAYAN R., VAN BOECKEL T., TEILLANT A. The economic costs of withdrawing antibiotic growth promoters from the livestock sector. **OECD Food, Agriculture and Fisheries Papers**, v.78, 2015.

LEE, K.M., RUNYON, M., HERMAN, T.J., PHILIPS, R., HSIEH, J. Review of *Salmonella* detection and identification methods: aspects of rapid emergency response and food safety. **Food Control**, v. 47, p. 264-276, 2015.

LIMA, A.L., RODRIGUES, D.P., ARAUJO, M.S., REIS, E.M.F., FESTIVO, M.L., RODRIGUES, E.C.P., LAZARO, N.S. Sorovares e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em *Salmonella* spp. isoladas de produtos de origem suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, p. 39-47, 2016.

LI, Y., YANG, Q., CAO, C., CUI, S., WU, Y., YANG, H., XIAO, Y., YANG., B. Prevalence and characteristics of *Salmonella* isolates recovered from retail raw chickens in Shaanxi Province, China. **Poultry Science**, v. 99, p. 6031-6044, 2020.

LUCKE, F.K. Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Science**, v. 56, p. 105-115, 2000.

LYAPPARAJ, P., MARUTHIAH T., RAMASUBBURAYAN R., PRAKASH S., KUMAR C., IMMANUEL, G., PALAVESAM, A. Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus* spp. MSU3IR against shrimp bacterial pathogens. **Aquatic Biosystems**, v. 9 p.1–10, 2013.

MAGIORAKOS A.P., SRINIVASAN A., CAREY R.B., CARMELI, Y., FALAGAS, M.E., GISKE, C.G., HARBARTH, S. HINDLER, J.F., KAHLMETER, G., OLSSON-LILJEQUIST, B. PATERSON, D.L., RICE, L.B., STELLING, J., STRUELENS, M.J., VATOPOULOS, A., WEBER, J.T., MONNET, D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection: the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 18, 2011.

MARAGKOUidakis, P.E., MOUNTZOURIS, K.C., PSYRRAS, D., CREMONESE, S., FISCHER, J., CANTOR, M.D., TSAKALIDOU, E. Functional properties of novel protective

lactic acid bacteria and application in raw chicken meat against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 130, p. 219-226, 2009.

MARIN, C., LAINEZ, M. *Salmonella* detection in feces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse. **Poultry Science**, v. 88, p. 1999-2005, 2009.

MARQUES, A.G., DOI, A.M., PASTERNAK, J., DAMASCENA, M.S., FRANÇA, C.N., MARTINHO, M.D.V. Performance of the dipstick screening test as a predictor of negative urine culture. **Einstein (São Paulo)**, v. 15, p. 34-39, 2017.

MARRERO-ORTIZ, R., HAN, J., LYNNE, A.M., DAVID, D.E., STEMPER, M.E., FARMER, D., BURKHARDT III, W., NAYAK, R., FOLEY, S.T. Genetic characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovars isolated from dairy cattle in Wisconsin. **Food Research International**, v. 45, p. 962-967, 2012.

MCEWEN, S.A., COLLIGNON, P.J. Antimicrobial resistance: a One Health perspective. **ASM Journal**, v. 6, 2018.

MCKEE, S. R. Pre-Harvest Survey for Best Practices in Pathogen Control. Pre-Harvest Food Safety Conference. **International Poultry Expo and International Feed Expo**, Atlanta, Georgia. January 25–26, 2012.

MCMILLAN, E.A., GUPTA, S.K., WILLIAMS, L.E., JOVE, T., HIOTT, L.M., WOODLEY, T.A., BARRETT, J.B., JACKSON, C.R., WASILENKO, J.L., SIMMONS, M., TILLMAN, G.E., MCCLELLAND, M., FRYE, J.G. Antimicrobial Resistance Genes, Cassettes, and Plasmids Present in *Salmonella enterica* Associated With United States Food Animals. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 832, 2019.

MEDALLA, F., GU, W., MAHON, B.E., JUDD, M., FOLSTER, J., GRIFFIN, P.M., HOEKSTRA, R. Estimated incidence of antimicrobial drug-resistant nontyphoidal *Salmonella* infections, United States, 2004-2012. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, p. 29-37, 2016.



MEDALLA, F., HOEKSTRA, R.M., WHICHARD, J.M., BARZILAV, E.J., CHILLER, T.M., JOYCE, K., RICKERT, R., KRUEGER, A., STUART, A., GRIFFIN, P.M. Increase in resistance to ceftriaxone and nonsusceptibility to ciprofloxacin and decrease in multidrug resistance among *Salmonella* strains, United States, 1996-2009. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, p. 302-309, 2013.

MEDINA-SANTANA, J.L., ORTEGA-PAREDES, D., JANON, S., BURNETT, E., ISHIDA, M., SAUDERS, B., STEVENS, M., VINUEZA-BURGOS, C. Investigating the dynamics of *Salmonella* contamination in integrated poultry companies using a whole genome sequencing approach. **Poultry Science**, v. 101, 2022.

MUELLER-DOBLIES, D., SAYERS, A.R., CARRIQUE-MAS, J.J., DAVIES, R.H. Comparison of sampling methods to detect *Salmonella* infection of turkey flocks. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 635-645, 2009.

MULLER, A., RYCHLI, K., MUHTEREM-UYAR, M., ZAISER, A., STESSL, B., GUINANE, C.M., COTTER, P.D., WAGNER, M., SCHMITZ-ESSER, S. Tn6188 – a novel transposon in *Listeria monocytogenes* responsible for tolerance to benzalkonium chloride. **Plos One**, v. 8, 2013.

MUHAMMAD, J., KHAN, S., SU, J.Q., HESHAM, A.E.L., DITTA, A., NAWAB, J., ALI, A. Antibiotics in poultry manure and their associated health issues: a systematic review. **Journal of Soils and Sediments**, v. 20, p. 486-497, 2020.

MUNCK, N., SMITH, J., BATES, J, GLASS, K., HALD, T., KIRK, M.D. Source attribution of *Salmonella* in Macadamia nuts to animal and environmental reservoirs in Queensland, Australia. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 17, p. 357-364, 2020.

NADI, Z.R., SALEHI, T.Z., TAMAI, I.A., FOROUSHANI, A.R., SILANPAA, M., DALLAL, M.M.S. Evaluation of antibiotic resistance and prevalence of common *Salmonella enterica* serovars isolated from foodborne outbreaks. **Microchemical Journal**, v. 155, 2020.

NADON, C., VAN WALLE, I., GERNER-SMIDT, P., CAMPOS, J., CHINEN, I., CONCEPCION-ACEVEDO, J., GILPIN, B., SMITH, A.M., MAN, K. PulseNet International: vision for

the implementation of whole genome sequencing (WGS) for global food-borne disease surveillance. **Euro Surveill**, v. 22, 2017.

NAIR, D.V., NANNAPANENI, R., KIESS, A., SCHILLING, W., SHARMA, C.S. Reduction of *Salmonella* on turkey breast cutlets by plant-derived compounds. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.11, p. 981-987, 2014.

NEVELING, D.P., AHIRE, J.J., LAUBSCHER, W., RAUTENBACH, M., DICKS, L.M.T. Genetic and phenotypic characteristics of a multi-strain probiotic for broilers. **Current Microbiology**, v. 77, p. 369-387, 2020.

NUNES, R. V., SCHERER, C., POZZA, P. C., EYNG, C., BRUNO, L. D. G., VIEITES, F. M. Use of probiotics to replace antibiotics for broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41 p. 2219-2224, 2012.

OLADEINDE, A., COOK, K., ORLEK, A., ZOCK, G., HERRINGTON, K., COX, N., LAWRENCE, J.P., HALL, C. Hotspot mutations and ColE1 plasmids contribute to the fitness of *Salmonella* Heidelberg in poultry litter. **Plos One**, v. 13, 2018.

OLIVEIRA, D.C.V, FERNANDES JR, A., KANENO, R., SILVA, M.G., SILVA, N.C.C., RALL, V.L.M. Ability of *Salmonella* spp. to produce biofilm is dependent on temperature and surface material. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 11, p. 478-483, 2014

OLTRAMARI, K., CARDOSO, R.F., PATUSSI, E.V., SANTOS, A.C.B., MIKCGA, J.M.G. Genetic heterogeneity of *Escherichia coli* isolate from pasteurized milk in State of Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, p. 337-343, 2014.

ONICIUC, E.A., LIKOTRAFITI, E., ALVAREZ-MOLINA, A., PRIETO, M., LOPEZ, M., ALVAREZ-ORDONEZ, A. Food processing as a risk factor for antimicrobial resistance spread along the food chain. **Current Opinion in Food Science**, v. 30, p. 21-26, 2019.

OSAILI, T.M., AL NABUSI, A.A., SHAKER, R.R., OLAIMAT, A.N., JARADAT, Z.W., HOLLEY, R.A. Thermal inactivation of *Salmonella* Typhimurium in chicken shawirma (gyro). **International Journal Food Microbiology**, v. 166, p. 15-20, 2013.

PAN, D., YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Journal Gut Microbes*, v. 5, p. 108-119, 2014.

PIRAS, F., SPANU, V., SIDDI, G., GYMOESE, P., SPANU, C., CIBIN, V., SCHJORRING, S., DE SANTIS, E.P.L., SCARANO, C. Whole-genome sequencing analysis of highly prevalence *Salmonella* serovars in wild boars from a national park in Sardinia. **Food Control**, v. 130, 2021.

POSTMA, M., BACKHANS, A., COLLINEAU, L., LOESKEN, S., SJÖLUND, M., BELLOC, C., EMANUELSON, U., GROSSE BEILAGE, E., NIELSEN, E. O., STÄRK, K. D. C., DEWULF, J., CONSORTIUM, M. Evaluation of the relationship between the biosecurity status, production parameters, herd characteristics and antimicrobial usage in farrow-to-finish pig production in four EU countries. **Porcine Health Management**, v.2., 2016.

PRESTINACI, F., PEZZOTTI, P., PANTOSTI, A. Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. **Pathogens and Global Health**, v.109, p. 309-318, 2015.

QUIGLEY, L., O'SULLIVAN, O., STANTON, C., BERESFORD, T.P., ROSS, R.P., FITZGERALD, G.F., COTTER, P.D. The complex microbiota of raw milk. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, p. 664-698, 2013.

RAHIMIFARD, N., MOGHNI, M., NASERI, M. Evaluation and comparison of three antimicrobial activity methods using bifidobacteria bifidum and bifidobacteria infantis as probiotic bacteria against *Salmonella enterica* serotype enteritidis. **Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access**, v. 2, p. 61-64, 2016.

RANTSIOU, K., KATHARIOU, S., WINKLER, A., SKANDAMIS, P., SAINT-CYR, M.J., ROUZEAU-SZYNALSKI, K., AMEZQUITA, A. Next Generation microbiological risk assessment: opportunities of whole genomw sequencing (WGS) for foodborne pathogen surveillance, source tracking and risk assessment. **International Journal of Food Microbiology**, v. 287, p. 3-9, 2018.

RASSCHAERT, G., HOUF, K., GODARD, C., WILDEMAUWE, C., PASTUSZCZAK-FRAK, M., ZUTTER, L.D. Contamination of carcasses with *Salmonella* during poultry slaughter. **Journal of Food Protection**, v. 71, p. 146-152, 2008.

RAU, R.B., RIBEIRO, A.R., SANTOS, A., BARTH, A.L. Antimicrobial resistance of *Salmonella* from poultry meat in Brazil: results of a Nationwide survey. **Epidemiology and Infection**, v. 149, 2021.

REARDON, S. Antibiotic resistance sweeping developing world: bacteria are increasingly dodging extermination as drug availability outpaces regulation. **Nature: New Infocus**, v. 509, p. 141, 2014.

REHMAN, M.A., YIN, X., PERSAUD-LACHHMAN, M.G., DIARRA, M.S. First detection of a fosfomycin resistance gene, *fosA7*, in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolated from broiler chickens. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, p. 410, 2017.

RENSING, S.A. Great moments in Evolution: the conquest of land by plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 42, 49-54, 2018.

RICKE, S.C., Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, p. 632-639, 2003.

ROBINSON, T.P., BU, D.P., CARRIQUE-MAS, J., FEVRE, E.M., GILBERT, M., GRACE, D. et al. Antibiotic resistance is the health issue par excellence. **Transactions of the royal Society of tropical medicine and hygiene**, v. 110, p. 377-380, 2016.

RODRÍGUEZ, D. M.; SUÁREZ, M.C. *Salmonella* spp. in the pork supply chain: a risk approach. **Colombian Journal of Livestock Sciences**, v. 27, p. 65-75, 2014.

ROSE, N., BEAUDEAU, F., DROUIN, P., TOUX, J.Y., ROSE, V., COLIN, P. Risk factors for *Salmonella* persistence after cleansing and disinfection in French broiler-chicken houses. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 44, p. 9-20, 2000.

ROSS, R.P., MORGAN, S., HILL, C. Preservation and fermentation: past, present and future. **Food Microbiology**, v. 79, p. 3-16, 2002.

ROUNDS, J.M., TAYLOR, A.J., EIKMEIER, D., NICHOLS, M.M., LAPPI, V., WIRTH, S.E., BOXRUD, D.J., SMITH, K.E., MEDUS, C. Prospective *Salmonella* Enteritidis surveillance and outbreak detection using whole genome sequencing, Minnesota 2015-2017. **Epidemiology and Infection**, v. 148, p. 254, 2020.

RUEGG, S.R., MCMAHON, B. HASLER, B., ESPOSITO, R. NIELSEN, L.R., IFEJKA, C., SPERANZA, T., EHLINGER, M., PEYRE, M., ARAGRANDE, M., ZINSSTAG, J., DAVIES, P. et al. A blueprint to evaluate one health. **Frontiers in Public Health**, v. 5, p. 1-5, 2017.

SABAT, A.J., BUDIMIR, A., NASHEV, D., AS-LEAO R., VAN DIJIL, J., LAURENT, F., GRUNDMANN, H., FRIEDRICH, A.W. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. **Eurosurveillance**, v. 18, p 20380, 2013.

SALEEM, M., NAZIR, M., ALI, M.S., HUSSAIN, H., LEE, Y.S., RIAZ, R., JABBAR, A. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. **Natural Product Reports**, v. 27, p. 238-254, 2010.

SANTOS L.R, NASCIMENTO V.P., FLORES M.L. *Salmonella* Enteritidis isoladas de amostras clínicas de humanos e de alimentos envolvidos em episódios de toxinfecções alimentares, ocorridas entre 1995 e1996, no Estado do Rio Grande do Sul. **Higiene Alimentar**, v. 16, p. 93-99, 2002.

SARAIVA, L.R., REISCHAK, D., SANTOS, A., ALMEIDA, F.S. Método Desenvolvido Pelo Lanagro-SP Atende as Exigências Sanitárias do Controle Europeu da *Salmonella*. **Revista Sagres**, v. 01 p. 28-29, 2016.

SEVER, N. K., AKAN, M. Molecular analysis of virulence genes of *Salmonella* Infantis isolated from chickens and turkeys. **Microbial pathogenesis**, v. 126, p. 199-204, 2019.

SHANG, K., WEI, B., JANG, H.K., KANG, M. Phenotypic characteristics and genotypic correlation of antimicrobial resistant (AMR) *Salmonella* isolates from a poultry slaughterhouse and its downstream retail markets. **Food Control**, v. 100, p. 35-45, 2019.

SHOKRYAZDAN, P., SIEO, C.C., KALAVATHY, R., LIANG, J.B., ALITHEEN, N.B., JAHROMI, M.F., HO, Y.W. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with antimicrobial activity Against some human pathogenic strains. *Biomed Research International*, v. 2014, p16, 2014.

SILVA, C.J., TEJADA, T.S., TIMM, C.D. Resistência de *Salmonella* isoladas de humanos e de frangos a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, p. 120-131, 2014.

SIRIKEN, B., TURK, H., YILDIRIM, T., DURUPINAT, B., EROL, I. Prevalence and Characterization of *Salmonella* Isolated from Chicken Meat in Turkey. **Food Research International**, v. 80, p. 9-16, 2015.

SO, A., SHAH, T.A., ROACH, S., LING CHEE, Y., NACHMAN, K.E. Na integrated systems approach is needed to ensure the sustainability of antibiotic effectiveness for both humans and animals. **Journal of law, medicine and ethics**, v. 43, p. 38-45, 2015.

SOARES, F.B., CAMARGO, C.H., CUNHA, M.P.V., ALMEIDA, E.A., BERTANI, A.M.J., CARVALHO, E., PAIVA, J.B., FERNANDES, S.A., TIBA-CASAS, M.R. Subtyping of plasmid-mediated quinolone resistance among *Salmonella* serotypes by whole genome sequencing. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 94, p. 403-406, 2019.

SOUICY, S.M., HUANG, J., GOGARTEN, J.P. Horizontal gene transfer: Building the web of life. **Nature Reviews Genetics**, v. 16, p. 472-482, 2015

SPECTOR, M.P., KENYON, W.J. Resistance and survival strategies of *Salmonella* enterica to environmental stresses. **Food Research International**, v.45, p. 455 – 481, 2012.

SPRICIGO, D.A., BARDINA, C., CORTES, P., LIAGOSTERA, M. Use of a bacteriophage cocktail to control *Salmonella* in the food and food industry. **International Journal of Food Microbiology**, v. 165, p. 169-174, 2013.

TACCONELLI, E., CARRARA, E., SAVOLDI, A., HARBARTH, S., MENDELSON, M., MONNET, D.L., PULCINI, C., KAHLMETER, G., KLUTMANS, J., CARMELI, Y., OUELLETTE, M., OUTTERSON, K., PATEL, J., CAVALERI, M., COX, E.M. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, p. 318-327, 2018.

TADESSE, G, GEBREMEDHIN, E.Z. Prevalence of *Salmonella* in raw animal products in Ethiopia: a meta-analysis. **BMC Research Notes**, v. 8, p. 163, 2015.

TAGG, K.A., WATKINS, L.F., MOORE, M.D., BENNETT, C., JOUNG, Y.J., CHEN, J.C., FOLSTER, J.P. Novel trimethoprim resistance gene *dfrA34* identified in *Salmonella* Heidelberg in the USA. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.74, p. 38-41, 2018.

TEILLANT, A., BROWER, C.H., LAXMINARAYAN, R. Economics of antibiotic growth promoters in livestock. **Annual Review of Resource Savings**, v. 7, p. 349-374, 2015.

TELLEZ G., PIXLEY C., WOLFENDEN R., LAYTON S., HARGIS B. Probiotics/direct fed microbials for *Salmonella* control in poultry. **Food Research International**, v. 45, p. 628-633, 2012.

USDA. Pathogen reduction; hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. **Federal Register**, v.61, p. 38806-38989, 1996.

VAN BOECKEL, T.P., GLENNON, E.E., CHEN, D., GILBERT, M., ROBINSON, T.P., GRENFELL, B.T., LEVINS, S.A., BONHOEFFER, S., LAXMINARAYAN, R. Reducing antimicrobial use in food animals. **Science**, v. 357, p. 1350-1352, 2017.

VAN BOECKEL, T.P., PIRES, J., SILVESTER, R., ZHAO, C., SONG, J., CRISCUOLO, N.G., GILBERT, M., BONHOEFFER, S., LAXMINARAYAN, R. Global trends in antimicrobial resistance in animals in low-and middle- income countries. **Science**, v. 365, 2019.

VAZ, C.S.L., VOSS-RECH, D., KRAMER, B., ABREU, P.G. Poultry litter: influence of reuse management between lots on the persistence of *Salmonella* Heidelberg. **Poultry Farming**, EMBRAPA, n. 08, 2019.

VERSALOVIC, J., KOEUTH, T., LUPSKI, J.R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 19, p. 6823-6831, 1991.

VOLKOVA, V.V., BAILEY, R.H., RYBOLT, M.L., DAZO-GALARNEAU, K., HUBBARD, S.A., MAGEE, D., BYRD, J.A., WILLS, R.W. Inter-relationships of *Salmonella* status of flock and grow-out environment at sequential segments in broiler production and processing. **Zoonoses Public Health**, V. 57, p. 463-475, 2010.

VOSS-RECH, D., KRAMER, B., SILVA, V.S., REBELATTO, R., ABREU, P.G., COLDEBELLA, A., VAZ, C.S.L. Longitudinal study reveals persistence environmental *Salmonella* Heidelberg in Brazilian broiler farms. **Veterinary Microbiology**, v. 233, p. 118-123, 2019.

VOSS-RECH, D., POTTER, L., VAZ, C.S.L., PEREIRA, D.I.B, SANGIONI, L.A., VARGAS, A.C., BOTTON, S.A. Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella* isolated from human and poultry-related samples in Brazil: 20 year meta-analysis. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 14, p. 116-124, 2017.

VUOTTO, C., LONGO, F., DONELLI, G. Probiotics to counteract biofilm-associated infections: Promising and conflicting data. **International Journal of Oral Science**, v. 6, p. 189-194, 2014.

XIMENES, E., KU, S., HOAGLAND, L., LADISCH, M. R. Accelerated sample preparation for fast *Salmonella* detection in poultry products. In: Foodborne Bacterial Pathogens. **Methods in Molecular Biology**, v. 1918, p. 3-20, 2019.

WAN, L.Y.M., CHEN, Z.J., SHAH, N.P., EL-NEZAMI, H. Modulation of intestinal epithelial defense responses by probiotic bacteria. **Critical Reviews in Food, Science and Nutrition**, v. 56, p. 2628-2641, 2016.

WANG, C., CHANG, T., YANG, H., CUI, M. Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 47, p. 231-236, 2015.



WANG, H., DING, S., DONG, Y., YE, K., XU, X., ZHOU, G. Biofilm formation of *Salmonella* serotypes in simulated meat processing environments and its relationship to cell characteristics. **Journal of Food Protection**, v. 76, p. 1784-1789, 2013.

WANG, X., RAINEV, J.J., GORYOKA, G.W., LIANG, Z., WU, S., WEN, L., DUAN, R., QIN, S., HUANG, H. KHAROD, G., RAO, C.Y., SALVER, S.J., BEHRAVESH, C.B., JING, H. Using a One Health approach to prioritize zoonotic diseases in China, 2019. **Plos One**, v. 19, 2021.

WEI, S.L., WEE, W., SIONG, F.Y.J., SYAMSUMIR, F.D. Characterization of antimicrobial, antioxidant, anticancer properties and Chemical composition of Malaysian *Andrographis paniculata* leaf extract. **Pharmacology online**, v. 2, p. 996-1002, 2011.

WENDT, A. KREIENBROCK, L., CAMPE, A. Zoonotic disease surveillance-inventory of systems integrating human and animal disease information. **Zoonoses Public Health**, v. 62, p. 61-74, 2015.

WHO, World Health Organization. INTEGRATED SURVEILLANCE OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN FOODBORNE BACTERIA Application of a One Health Approach, 2017.

WHO. World Health Organization. Main facts. *Salmonella* (non-typhus), 2018. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)), acesso em 12 de outubro de 2020.

WHO. World Health Organization. One health, 2022 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/one-health>. Acesso em 09 de outubro de 2022.

ZADERNOWSKA, A., CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA, W. Prevalence, biofilm formation and virulence markers of *Salmonella* sp. and *Yersinia enterocolitica* in food of animal origin in Poland. **LWT – Food Science and Technology**, v. 75, p. 552-556, 2017.

ZHAO, X., ZHAO, F., WANG, J., ZHONG, N. Biofilm formation and control strategies of foodborne pathogens: Food safety perspectives. **Royal Society of Chemistry Advances**, V. 7, p. 36670-36683, 2017.

ZINSSTAG, J., MEISSER, A., SCHELLING, E., BONFOH, B., TANNER, M. From “two medicines” to “One Health” and beyond. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 79, p.492, 2012.

ZOTTOLA, T., MONTAGNARO, S., MAGNAPERLA, C., SASSO, S., DE MARTINO, L., BRAGAGNOLO, A., D’AMICI, L., CONDOLEO, R., PISANELLI, G., IOVANE, G., PAGNINI, U. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* in European wild boar (*Sus scrofa*); Latium region – Italy. *Comparative Immunology. Microbiology and Infectious Diseases*, v. 36, p. 161-168, 2013.

ZWE, Y.H., CHIN, S.F., KOHLI, S., AUNG, K.T., YANG, L., YUK, H.G. Whole genome sequencing (WGS) fails to detect antimicrobial resistance (AMR) from heteroresistant subpopulation of *Salmonella enterica*. **Food Microbiology**, v. 91, 2020.