

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ADRIEL AZEVEDO DA SILVA TAVARES

**PERFIL DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Salmonella*
HEIDELBERG ISOLADAS DE CARÇAÇAS E CAMA DE FRANGOS**

Uberlândia - MG

2020

ADRIEL AZEVEDO DA SILVA TAVARES

**PERFIL DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Salmonella*
HEIDELBERG ISOLADAS DE CARÇAÇAS E CAMA DE FRANGOS**

Estudo apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para a aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Daise Aparecida Rossi

Uberlândia - MG

2020

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço de todo o meu coração a Deus, meu Senhor, pela vida, por cuidar de mim, por me conduzir e pelas oportunidades que me foram concedidas. Minha eterna gratidão e devoção.

À minha namorada e companheira Leylaine. Obrigado por estar sempre ao meu lado, sendo paciente, carinhosa e me incentivando a prosseguir. Meus dias se tornaram mais felizes desde que você chegou.

Aos meus pais, Adenilson e Raquel, e à minha irmã, Daniela. Obrigado por sempre me apoiarem em minha trajetória acadêmica, por serem meus amigos, por me ajudarem em dias difíceis. Muito obrigado pelos conselhos dados. Serei eternamente grato a vocês.

À professora Daise, minha orientadora. Obrigado pelo empenho ao me orientar nos trabalhos que escrevi, mesmo sendo muito atarefada, sempre separou um tempo para fazer as correções necessárias e atender às minhas mensagens, até de madrugada. Muito obrigado pelo apoio!

À professora Bia, que sempre esteve disponível para me auxiliar, conseguindo material para a realização das pesquisas e dando direcionamentos.

A todos do LABIO: Marcelo, Sílvia, Francesca (Tchesca), Roberta, Eliane, Guilherme (Gui), Edson e, em especial, ao Phelipe (Banner) e à Thais que me acompanharam de perto na execução das pesquisas. Obrigado pela paciência que tiveram comigo e pelo companheirismo nesses anos que frequentei o laboratório. Com vocês aprendi muito.

Aos amigos que fiz durante a graduação e aos que fiz na Shalom Comunidade Cristã. Vocês tornaram meus dias mais alegres e me deram forças para continuar. Guardarei para sempre cada um de vocês no meu coração.

Ao Samuel e à Roberta, que aceitaram compor esta banca de defesa. Obrigado por dedicarem parte de seu tempo lendo, fazendo correções, levantando considerações e avaliando o trabalho.

Muito obrigado a todos!

RESUMO

Além da relevância em saúde pública, *Salmonella* é responsável por sérios prejuízos na avicultura e compromete as exportações. As preocupações se amplificam pela multiplicidade de sorovares, sendo alguns considerados mais importantes por impactarem tanto a saúde humana como a economia, como o sorovar Heidelberg. O presente estudo combina a análise de fatores genéticos relacionados à virulência e resistência antimicrobiana por meio da PCR em 20 cepas de *S. Heidelberg* provenientes de aves produzidas no sul do Brasil, somada à caracterização do perfil de resistência aos antimicrobianos usados na terapêutica humana pela determinação da CIM (concentração inibitória mínima). Os genes *ompC* (proteína de membrana externa), *agfA* (adesão), *sodC* (eliminação de radicais livres), *invA*, *avrA* e *lpfA* (invasão) foram detectados em todas as cepas e o gene *luxS* (biofilme) em 70% delas. Quanto a resistência a antimicrobianos, todas as cepas foram resistentes à colistina, 90% delas à ceftriaxona, 60% à amoxicilina e 10% à ciprofloxacina. Além disso, uma das cepas apresentou o gene *blaTEM* (beta-lactamase). Este quadro de virulência e resistência a vários antimicrobianos representa problema de saúde pública e pode favorecer processos infecciosos mais graves e dificultar o estabelecimento de terapêutica adequada.

Palavras-chave: Virulência, Resistência antimicrobiana, CIM, Salmonelose.

ABSTRACT

In addition to the public health relevance, salmonellosis is responsible for serious losses in poultry production and compromises exportation. Concerns are amplified by the multiplicity of serovars, some of which are considered more important because they impact both human health and economy, such as the Heidelberg serovar. This study combines the analysis of genetic factors related to virulence and antimicrobial resistance using PCR in 20 strains of *S. Heidelberg* from chickens produced in southern Brazil, added to the characterization of the resistance profile to antimicrobials used in human therapy by determining the MIC (minimum inhibitory concentration). The *ompC* (outer membrane protein C), *agfA* (adhesion), *sodC* (removal of superoxide radicals), *invA*, *avrA* e *lpfA* (invasion) genes were detected in all strains and the *luxS* gene (biofilm) in 70% of them. As for antimicrobial resistance, all strains are resistant to colistin, 90% of them to ceftriaxone, 60% to amoxicillin and 10% to ciprofloxacin. In addition, one of the strains carries the *blaTEM* gene (beta-lactamase). This overview of virulence and resistance to various antimicrobials can favor infectious processes caused by this serovar, aggravate the patient's condition and hinder the establishment of adequate therapy.

Keywords: Virulence factors, Resistance factors, Antimicrobial resistance, MIC, Salmonellosis.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	6
1.1	Objetivos.....	7
1.1.1	<i>Objetivo geral.....</i>	<i>7</i>
1.1.2	<i>Objetivos específicos.....</i>	<i>7</i>
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
2.1	O gênero <i>Salmonella</i> , o sorovar Heidelberg e a Salmonelose	9
2.2	Fatores de Virulência em <i>Salmonella</i> spp.....	11
2.3	Antimicrobianos e Resistência.....	13
2.3.1	<i>Principais Classes De Antimicrobianos</i>	<i>14</i>
3	METODOLOGIA.....	17
3.1	Cepas.....	17
3.2	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	18
3.3	Pesquisa de genes de virulência e de resistência antimicrobiana	20
3.4	Análise dos resultados.....	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1	Resistência antimicrobiana.....	23
4.2	Genes específicos	25
5	CONCLUSÃO	28
	REFERÊNCIAS.....	29

1. INTRODUÇÃO

Dados disponíveis no mercado mundial de produção e comercialização de carne de frango demonstram que o Brasil é o maior país exportador, mantendo comércio com mais de 150 mercados importadores, sendo exportadas por ano aproximadamente quatro milhões de toneladas (ABPA, 2020). O país também é o terceiro maior produtor global, produzindo 13 milhões de toneladas de carne de frango em 2019 (ABPA, 2020).

Esta liderança na produção e exportação faz com que a cadeia produtiva avícola também se mantenha em destaque na sanidade, devendo manter os plantéis e alimentos seguros para que não se transformem em risco ao consumidor e barreira sanitária à exportação. Dentre os micro-organismos presentes nos plantéis, *Salmonella* spp. representa preocupação especial, já que, mesmo com a modernização, avicultura tecnificada e a adoção de medidas de biossegurança, ainda é relatada alta frequência de surtos de salmonelose humana (BORGES et al., 2019). Na União Europeia, a cada ano, mais de 91 mil casos de salmonelose são relatados (EFSA, 2019) e estima-se que *Salmonella* seja responsável por 1,35 milhão de casos clínicos, 26,5 mil hospitalizações e 420 mortes por ano nos Estados Unidos (CDC, 2020).

Com relação às aves comerciais, as salmoneloses são responsáveis por prejuízos diretos e indiretos na produção avícola, que também refletem na saúde pública (ANDREATTI et al., 2004). A presença de *Salmonella* no sistema digestório, na pele e entre as penas de frangos, pode levar à contaminação das carcaças na ocasião do abate e processamento e é responsável pela introdução do micro-organismo na planta industrial, na qual será carregado ao decorrer da linha de processamento, afetando a inocuidade do alimento final e aumentando o risco de infecção humana (DUARTE et al., 2009). Um maior número de aves infectadas aumenta a probabilidade da presença dessa bactéria na planta industrial, e consequentemente, nas carcaças (ANDREATTI et al., 2004).

Os sorovares de *Salmonella* com maior relevância na saúde pública ainda são Typhimurium e Enteritidis (BACK, 2010), mas outros tem alcançado destaque pelo aumento na prevalência, virulência ou resistência aos antimicrobianos. Em 2013, *S. Heidelberg* foi o sexto sorovar mais isolado em humanos nos Estados Unidos da

América (CDC, 2016). No Brasil, pesquisas demonstram a emergência do sorovar Heidelberg. Em uma análise feita na região sul do país, esse sorovar foi o mais isolado em carcaças de aves e nas instalações das granjas (PULIDO-LANDÍNEZ et al., 2013). No Paraná, estado situado também no sul do Brasil, outro estudo verificou que a prevalência de *S. Heidelberg* representava 12,3% entre as cepas de *Salmonella* isoladas em aviários (PANDINI et al., 2014).

Os processos infecciosos são determinados por fatores relacionados ao hospedeiro e ao agente etiológico. Envolvem a interação da condição imunológica do hospedeiro e a patogenicidade do micro-organismo. Isso significa que possuir genes de virulência e ser resistente aos antimicrobianos pode favorecer o estabelecimento da doença, sua maior gravidade e dificuldades nos tratamentos (VIEIRA, 2009). Dessa forma, avaliar e monitorar essas características em bactérias zoonóticas como *S. Heidelberg* contribui para o melhor entendimento da epidemiologia e base para o estabelecimento de políticas para o seu controle.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo geral

Objetivou-se determinar o potencial de virulência e a resistência aos antimicrobianos em cepas de *S. Heidelberg* isoladas de carcaças e cama de frango, discutindo o perigo que representam à saúde pública.

1.1.2. Objetivos específicos

Determinar em cepas de *S. Heidelberg* isoladas de carcaças e cama de frangos de corte:

- A concentração inibitória mínima (CIM) para os antimicrobianos amoxicilina com clavulanato, ceftriaxona, ciprofloxacina e colistina;
- Os genes *blaTEM* e *blaSHV* nas estirpes classificadas como resistentes a beta-lactâmicos e *qnrA* e *qnrS* nas resistentes a quinolonas;

- Estabelecer perfis de resistência aos antimicrobianos;
- Verificar a presença do gene constitutivo de proteína de membrana externa *ompC* e dos genes associados a virulência: *avrA*, *sodC*, *invA*, *sefA*, *agfA*, *lpfA* e *luxS*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. O gênero *Salmonella*, o sorovar Heidelberg e salmonelose

São conhecidos 2.610 diferentes sorovares do gênero *Salmonella* com base na classificação de Kaufmann-White (Grimont; Weill, 2007), que utiliza a tipagem dos antígenos: somáticos (O), que são polissacarídeos associados a lipopolissacarídeos presentes na parede celular; flagelares (H) relacionados a mobilidade; e capsulares (K), presentes no envelope celular.

O sorovar Heidelberg é isolado em aves e produtos derivados desde 1962 no Brasil (HOFER et al., 1997). Em comparação com outros sorovares paratíficos capazes de causar infecções em humanos e vários animais, *S. Heidelberg* é mais invasiva e causa doença de maior gravidade (COLLA et al., 2012).

Em países norte-americanos, *S. Heidelberg* é motivo de preocupação, sendo o terceiro sorovar mais identificado na cadeia de produção avícola no Canadá. Nesse país também é destaque em saúde pública e alterna com *S. Typhimurium* a posição de segundo ou terceiro sorovar mais isolado em humanos (GOVERNMENT OF CANADA, 2018). Nos Estados Unidos, é o sexto sorovar mais frequente detectado em humanos (CDC, 2016).

No Brasil, Heidelberg é um dos sorovares de maior ocorrência em análises de controle no sul do país. Entre 2012 e 2014, a frequência registrada deste sorovar foi de 20 a 33% em amostras positivas para *Salmonella* spp., ocupando a terceira posição em isolados em granjas produtoras de frango (VOSS-RECH et al., 2015).

Relativo à transmissão horizontal da salmonelose aviária, a infecção se dá pela via oral no momento em que os frangos entram em contato e ingerem micro-organismos do gênero *Salmonella*. Essas bactérias migram pelo trato gastrointestinal, se aderem e iniciam a colonização nesse ambiente. Elas interagem com a mucosa e se fixam em células dendríticas e células M, que estão em associação a agregados linfoides, e são internalizadas (SUZUKI, 1994). Dentre os diversos fatores que influenciam na colonização desses micro-organismos nos frangos, pode se citar a idade, condição imunológica, susceptibilidade genética, competição com a microbiota por sítios específicos de adesão e dose infectante (FOLEY et al., 2011). Após a

invasão, *Salmonella* é fagocitada e conduzida pelo sistema linfático ao fígado e ao baço, evento considerado importante para o desenvolvimento de uma infecção sistêmica em aves e mamíferos (BARROW et al., 2011).

Baseando-se na patogenia, a infecção sistêmica nas aves pode ser dividida em três fases distintas. A primeira é marcada pela invasão intestinal, seguida pela infecção sistêmica, e finalmente, a erradicação da *Salmonella* presente nos tecidos ou evolução para a morte. Em alguns casos, pode ocorrer a cura clínica, mas uma pequena quantidade de bactérias permanecer no interior de fagócitos em tecidos da ave (CHAPPELL et al., 2009).

Salmonella spp. tem sido vinculada a problemas de saúde animal e listada todos os anos entre os principais agentes patogênicos transmitidos por alimentos a humanos, sobretudo em decorrência de consumo de produtos avícolas (SHAH et al., 2017). Possui alta complexidade relacionada a endemicidade, dificuldade de diagnóstico, diversidade do patógeno, numerosas fontes de infecção e difícil controle (ANTUNES et al., 2016).

Na produção avícola, *Salmonella* spp. pode estar presente e ser carregada por toda a cadeia produtiva, desde os insumos, como a ração animal, até moradias ou estabelecimentos que oferecem serviço de alimentação. A doença em humanos é frequentemente adquirida por meio do consumo de alimentos contaminados de origem animal, especialmente ovos, carne e leite, embora outros alimentos, incluindo os de origem vegetal contaminados sejam relacionados a sua transmissão. De pessoa a pessoa, a transmissão pode ocorrer via fecal-oral (WHO, 2018).

S. Heidelberg está inserida no conjunto das salmonelas paratíficas capazes de causar infecção humana (BASSANI, 2017), sendo incriminado como um dos sorovares mais frequentes envolvidos em surtos de intoxicação alimentar em humanos no Brasil (KOTTWITZ et al., 2010).

Na salmonelose humana, o período de incubação é variável, assumindo valores de 6 a 72 horas após a ingestão do micro-organismo. Os sinais clínicos são diversos e podem iniciar com mal-estar, dores de cabeça, calafrios, dores musculares, febre com temperaturas de 38 a 40°C, náuseas, vômito e evolui para dores abdominais e diarreia branda a severa. A bactéria adentra e causa dano à mucosa intestinal

provocando diarreia, que pode ou não ser hemorrágica (BAU; SIQUEIRA; MOOZ, 2015). A duração da doença varia de um a quatro dias (ALMEIDA, 2015).

Na maioria dos indivíduos, a salmonelose é relativamente leve e a recuperação ocorre sem prescrição de antimicrobianos, mas em alguns casos, principalmente em crianças, idosos e imunocomprometidos, a desidratação decorrente pode agravar o caso e colocar o paciente em risco de vida (WHO, 2018). Também pode haver complicações com septicemia, lesões em diversos órgãos e meningite, e nesses casos, a prescrição de antimicrobianos é imprescindível (ALMEIDA, 2015).

2.2. Fatores de Virulência em *Salmonella* spp.

Os processos infecciosos são determinados pela interação da condição imunológica do hospedeiro e a patogenicidade do micro-organismo. Isso significa que a virulência expressa pela bactéria pode favorecer o desenvolvimento da doença (VIEIRA, 2009). Os fatores de virulência são codificados em regiões móveis ou específicas do DNA bacteriano, podendo estar presentes na forma cromossômica ou plasmidial (VAN ASTEN et al., 2005) e a maior parte desses genes está localizada em regiões chamadas de ilhas de patogenicidade (SCHMIDT et al., 2004). A inserção ou deleção de um gene, seja ele qual for, pode ter por consequência a modificação da virulência (OLIVEIRA et al., 2013). O estudo dos perfis de virulência de patógenos zoonóticos é importante e seu monitoramento permite viabilizar medidas de controle e fiscalização eficazes (MENDONÇA, 2016).

A patogenicidade de bactérias entéricas depende da sua capacidade de adesão à célula do hospedeiro. Deste modo, antes de invadir qualquer tipo de célula, os micro-organismos dependem do contato, aderência e fixação a um ou mais tipos celulares encontrados no tecido intestinal (GIBSON et al., 2007). *Salmonella* spp. pode expressar genes de virulência que auxiliem sua invasão, dentre eles: *agfA* (atuação significativa na codificação da fímbria agregativa *Tafi - Thin Aggregative Fimbriae*), *invA* (invasão de células epiteliais), *lpfA* (atua na codificação da fímbria longa que permite a adesão às células M do intestino) e *sefA* (codificação da fímbria *SEF14*) (AN, PARSEK 2007; PORTER; CURTISS, 1997; OCHOA; RODRÍGUES, 2005; GIBSON et al., 2007; MIRMOMENI; KIANI; SISAKHTNEZHAD, 2008).

O operon *agf* codifica a fímbria *Tafi* e a subunidade *AgfA* da fímbria agregativa, a qual liga-se diversas moléculas do hospedeiro para favorecer a sobrevivência e a fixação da bactéria ao epitélio do intestino. Esta fímbria está associada, também, com a união das salmonelas entre si, aumentando sua probabilidade de sobrevivência frente às adversidades do trato gastrointestinal, como o ácido clorídrico e surfactantes, já que a formação de biofilme diminui a superfície de contato com estes agentes bactericidas (GIBSON et al., 2007; WHITE et al., 2003).

A fímbria longa é codificada pelo gene *lpfA*. Esta fímbria e os outros genes ligados à capacidade de invasão estão diretamente atrelados ao tropismo pelo primeiro local de infecção, as placas de *Peyer* do íleo, demonstrando sua notoriedade no início da infecção (OCHOA; RODRÍGUES, 2005).

Na formação do biofilme, o gene *luxS* está envolvido na síntese do autoindutor 2 (AI-2) que é secretado pelas bactérias e é usado para comunicar a densidade celular e o potencial metabólico do ambiente; esse gene é responsável pelo desenvolvimento do sistema *quorum sensing* (JU et al., 2018). É atribuído ao gene *sodC* a codificação da enzima *SOD* (superóxido-dismutase), que converte radicais superóxido em oxigênio e peróxido de oxigênio (PACELLO, 2008).

O gene *avrA* codifica proteínas que promovem a invasão do trato intestinal devido ao aumento da proliferação celular no intestino, levando a desregulação das respostas intestinais (SUN et al., 2004). Esse gene codifica proteínas bacterianas efetoras primordiais à infecção e multiplicação bacteriana por promover evasão ao sistema imune do hospedeiro. Seu modo de ação é induzir apoptose celular, ação que dificulta a resposta do organismo à infecção (LABRIOLA et al., 2018). Este gene é muito preservado em sorovares de *Salmonella* relevantes à saúde pública como *S. Heidelberg*.

No gênero *Salmonella*, outro importante fator de patogenicidade é a fímbria SEF14. O operon *sef* é constituído por quatro genes (*sefA*, *sefB*, *sefC* e *sefD*). Estes genes codificam a maior subunidade da proteína *SefA*, que compõe a fímbria; além da proteína da membrana externa (*SefB*); o maior componente da fímbria (*SefC*) e uma adesina (*SefD*). Esta fímbria é de grande importância para a sobrevivência do micro-organismo dentro dos macrófagos (MIRMOMENI; KIANI; SISAKHTNEZHAD, 2008).

2.3. Antimicrobianos e Resistência

Os antimicrobianos são um grupo de fármacos que inibem o crescimento ou destroem micro-organismos. Eles possuem diversos mecanismos ao atuar em bactérias, incluindo a inibição da síntese de membrana plasmática ou parede celular microbiana; impedindo a replicação do DNA, da transcrição ou da tradução do RNA bacteriano; inibição da síntese proteica; interferindo no metabolismo do ácido fólico, entre outros (GUMBO, 2012).

No momento em que um micro-organismo é submetido a uma condição estressante que põe em risco a sua sobrevivência, mecanismos intrínsecos são acionados com a finalidade de evitar sua eliminação. Algumas bactérias, ao sofrerem pressão química, foram selecionadas ao longo de anos e as que possuíam formas de lidar com essa adversidade, ou seja, resistência ao antimicrobiano, sobreviveram e passaram essa característica a outros micro-organismos (GUMBO, 2012).

Na produção animal a pressão de seleção é constante, já que o uso de antimicrobianos nesse meio não é limitado à terapêutica, mas também para a profilaxia e como promotores de crescimento. O emprego descomedido desses fármacos propicia a emergência de cepas resistentes gerando risco à saúde animal e humana (ANTUNES et al., 2016).

A resistência aos antimicrobianos pode ser também resultante de alterações em sítios bacterianos aleatoriamente, por mutação ou recombinação do material genético do micro-organismo. Os principais mecanismos de recombinação envolvidos são: transformação (incorporação de material genético externo), conjugação (intercâmbio de material genético via plasmídeos) ou transdução (material genético de uma bactéria inserido em outra por agente viral) (FIOCRUZ, 2017).

Em animais e humanos, a terapêutica da salmonelose tem se tornando mais complicada ao longo dos anos em razão da emergência de cepas com perfil de resistência a diversos antimicrobianos (TAMANG et al., 2011). Pesquisas realizadas em vários continentes com cepas de *Salmonella* Heidelberg isoladas de animais de produção detectaram resistência a classes de antibióticos como os beta-lactâmicos (FOLSTER et al., 2012).

Na tentativa de reduzir a pressão de seleção de micro-organismos resistentes a antimicrobianos, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil proibiu o uso de anfenicóis, tetraciclinas, beta-lactâmicos (benzilpenicilâmicos, cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas sistêmicas na cadeia produtiva de alimentos de origem animal desde 2009 pela Instrução Normativa nº26, 9/07/2009 (BRASIL, 2009).

2.3.1. Principais Classes De Antimicrobianos

2.3.1.1. Beta-lactâmicos

Esse grupo é representado pelas penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, oxapeninas e monobactâmicos (GUIMARÃES, 2010). A amoxicilina e a ceftriaxona são exemplos de antimicrobianos que compõem o grupo. São fármacos antimicrobianos que realizam a inibição da enzima responsável pela transpeptidação entre as cadeias de peptidoglicanos da parede celular bacteriana, a transpeptidase (NICOLAOU, 2008). Foi a primeira classe derivada de produtos naturais utilizada em tratamento de infecções.

O mecanismo de resistência mais frequente desenvolvido por bactérias a essa classe de antimicrobianos é a produção de enzimas beta-lactamases, que quebram o anel beta-lactâmico e inativam o fármaco, impossibilitando sua atuação na parede celular bacteriana (ALCAINE, 2007).

Beta-lactamases de Espectro Estendido (*ESBL*) é um subgrupo relevante de enzimas beta-lactamases, porque a sua secreção é um dos principais mecanismos de resistência que prejudicam a terapêutica antimicrobiana em infecções por bactérias da família Enterobacteriaceae (SOHEI, 2008). Há uma classificação de *ESBL* proposta por Bush-Jacoby-Medeiros fundamentada na predileção da enzima por determinado substrato e seus inibidores enzimáticos. Nessa classificação, as *ESBL* podem ser divididas em: grupo *2be*, enzimas do tipo TEM, SHV e CTX-M; grupo *2d*, enzimas do tipo OXA (BUSH et al., 2010).

Dentre as *ESBL*, TEM-1, a primeira a ser caracterizada do grupo, foi nomeada em referência à paciente da qual foi isolada (NAAS et al., 2008). Já as enzimas SHV

recebem esse nome por causa de sua estrutura química, “*sulphydryl variable*” (NAAS et al., 2008). A capacidade de sintetizar essas enzimas é compartilhada entre diversos micro-organismos da família Enterobacteriaceae, além de serem detectadas em outros bacilos Gram-negativos (LIVERMORE et al. 2006). As beta-lactamases TEM e SHV são codificadas em genes que estão no cromossomo bacteriano, *blaTEM* e *blaSHV* respectivamente (GUTKIND et al., 2013).

2.3.1.2. Quinolonas

As quinolonas são antimicrobianos sintéticos que possuem como base o alcaloide quinina. São subdivididas em primeira, segunda, terceira e quarta geração. Por provocar a morte do micro-organismo, possui ação bactericida e, além disso, atuam em amplo espectro. São exemplos de quinolonas, a ciprofloxacina, norfloxacina, enrofloxacina, marbofloxacina e ofloxacina (ANDERSSON; MACGOWAN, 2003; VAN BAMBEKE et al., 2005). Esse grupo é empregado de forma ampla em terapêutica de infecções em humanos e em metafilaxia e terapêutica em animais (HEUER et al., 2009).

O mecanismo de ação desses quimioterápicos se dá por meio da inibição das enzimas girase e topoisomerase IV que participam da replicação do *DNA* (COSTA, 2016). A forma que a bactéria resiste à atuação do fármaco varia entre os micro-organismos, podendo ocorrer por modificações na conformação das enzimas girase e topoisomerase IV, formação de sistemas de efluxo, alteração ou depleção de porinas e transformação do arranjo molecular do antimicrobiano. Os mecanismos de resistência são disseminados a outras bactérias por intermédio de plasmídeos que contêm genes de resistência (BOLON, 2011). Dentre esses genes, é válido ressaltar os responsáveis por codificar a síntese de peptídeos da família Qnr (QnrA, QnrB, QnrC, QnrD e QnrS), que são os genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* e *qnrS*. Esses peptídeos realizam inibição alostérica do fármaco e o impedem de se ligar às enzimas alvo (ROBICSEK et al., 2006).

2.3.1.3. Polimixinas

Polimixinas são uma categoria de antimicrobianos polipeptídicos. Fazem parte desse grupo as polimixinas A, B, C, D e E (STORM et al. 1977). Em 1949, a polimixina E foi isolada de um cultivo bacteriano de *Bacillus polymyxa colistinus*, e por essa razão, é um antibiótico também chamado de colistina (FALAGAS; KASIAKOU, 2005).

O mecanismo de ação das polimixinas é baseado na ligação do fármaco aos fosfolípídeos da membrana celular da bactéria Gram-negativa, gerando instabilidade e provocando a ruptura, modificando a permeabilidade e, em sequência, a morte (EVANS et al., 1999).

Há dois mecanismos de resistência às polimixinas. O primeiro é por alteração no lipídeo A do *LPS*, por adição de uma fosfoetanolamina, que reduz a carga negativa da superfície celular bacteriana e, o que limita a ação das polimixinas (ARROYO et al., 2011). O segundo é a perda total de *LPS* por mutações pontuais em genes que fazem parte da via de síntese do lipídeo A. São eles: *lpxA*, *lpxC* e *lpxD* (VILA-FARRÉZ et al., 2015).

3. METODOLOGIA

3.1. Cepas

Foram utilizadas 20 cepas de *Salmonella* Heidelberg oriundas de carcaças e cama de frangos de corte pertencentes a granjas com ciclo completo de produção e sistema de integração da região Sul do país, inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Federal - SIF, que comercializam seus produtos no Brasil e exterior. As bactérias foram isoladas e identificadas nas próprias empresas por testes bioquímicos como pertencentes ao gênero *Salmonella* conforme Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2003). A confirmação do sorovar foi realizado por testes sorológicos realizados no Departamento de Bacteriologia do Laboratório de Enterobactérias da Fundação Instituto Oswaldo Cruz no Estado do Rio de Janeiro (FIOC/FIOCRUZ, RJ, Brasil).

As cepas foram isoladas em oito empresas que recebiam animais de cinco diferentes produtores. Os isolamentos ocorreram entre 2017 e 2018. Dentre elas, 17 foram isoladas de suabes de arrasto de cama de aves, uma de fezes de aves, uma de ceco e outra de peito (Tabela 1).

Tabela 1 – Identificação das cepas de *S. Heidelberg* utilizadas no estudo.

Identificação	Data	Empresa	Produtor	Idade das aves	Material recebido
H01	07/02/2018	C	1	11 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H02	08/02/2018	D	1	25 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H03	09/02/2018	B	1	24 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H04	09/02/2018	B	2	21 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H05	09/02/2018	D	2	21 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H06	29/11/2017	E	1	26 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H07	01/12/2017	F	1	40 Dias	Fezes de Aves
H08	23/12/2017	G	1	46 Dias	Ceco
H09	15/02/2018	H	1	46 Dias	Peito
H10	15/02/2018	A	1	26 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H11	15/02/2018	A	1	26 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H12	15/02/2018	A	1	26 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H13	16/02/2018	H	2	24 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H14	16/02/2018	H	3	34 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H15	16/02/2018	A	2	27 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H16	16/02/2018	A	3	26 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H17	16/02/2018	A	4	26 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H18	16/02/2018	A	5	27 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H19	16/02/2018	A	5	27 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves
H20	16/02/2018	F	2	44 Dias	Suabe de arrasto de cama de aves

3.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

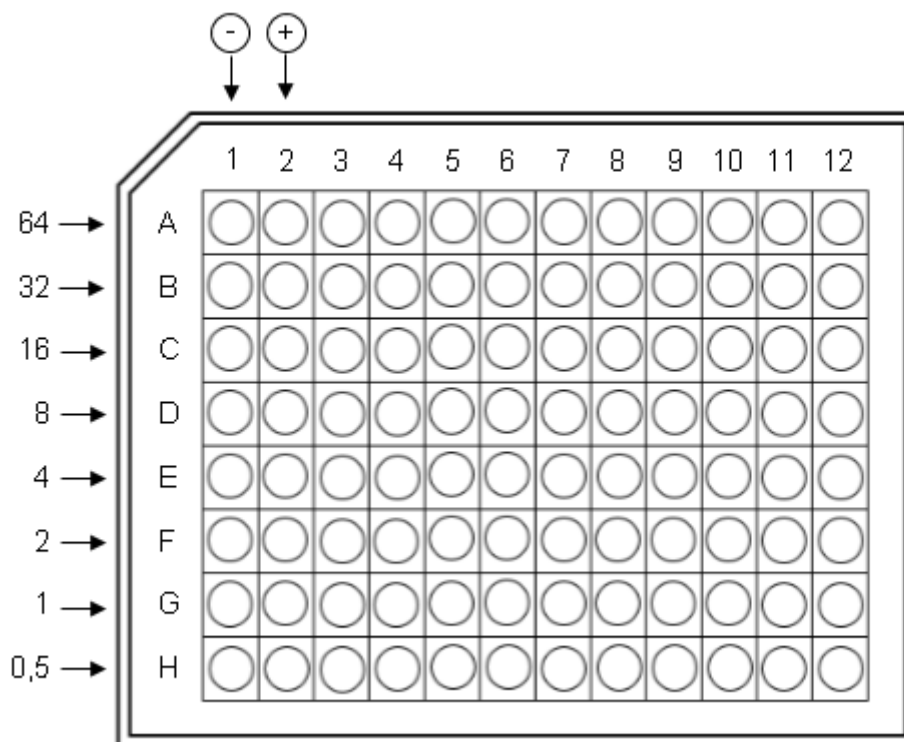
Foi determinada a CIM utilizando o método da microdiluição em caldo (CLSI, 2019). Foram testados os antimicrobianos: amoxicilina com clavulanato, colistina, ceftriaxona e ciprofloxacina; nas concentrações de: 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 e 64 µg/mL.

Para os testes, as cepas foram reativadas em caldo Mueller-Hinton (MH) até a obtenção de uma suspensão bacteriana padronizada em salina (NaCl 0,9%) correspondente a 0,5 na escala de MacFarland, equivalente a uma concentração de aproximadamente $5,0 \times 10^8$ UFC/mL.

Nos testes, foram utilizadas microplacas estéreis de 96 poços, individuais para cada antimicrobiano testado. Em um primeiro momento, os antimicrobianos foram diluídos em caldo Mueller-Hinton (MH), de modo a atingir concentração final de 128 µg/mL. Em sequência, 200µL da solução antibiótica foi adicionada em cada poço da linha A de cada microplaca. Os poços da linha B à linha H foram preenchidos com 100µL de caldo MH sem o antimicrobiano.

A diluição em série foi efetuada transferindo 100 µL do poço da primeira linha para a segunda, da segunda para a terceira, e assim de forma continuada. Como não há linha I, depois de homogeneizar a linha H, os últimos 100 µL foram descartados. Posteriormente, foram acrescentados 80 µL de caldo MH a todos os poços da microplaca e, depois, adicionados 20 µL da cultura bacteriana (padronizada em NaCl 0,9% estéril para a escala de 0,5 de MacFarland) em todos os poços de sua respectiva coluna. Como controle positivo, foi usada a cepa *S. Typhimurium* ATCC 14028 e como controle negativo, meio MH sem o acréscimo de bactérias. A figura 1 ilustra o arranjo das microdiluições e concentrações nas microplacas.

Figura 1: Disposição das cepas e concentrações nas microplacas.



Legenda: Esquema realizado pelo autor exemplificando o arranjo das microdiluições de cada um dos antimicrobianos nas microplacas. Número 1: controle negativo, sem bactérias. Número 2: controle positivo, *S. Typhimurium* ATCC 14028. Números 3 a 12: cepas diferentes em teste. A, B, C, D, E, F, G, H: diluições seriadas do antibiótico testado. Unidade: $\mu\text{g/mL}$.

Em sequência, as placas foram incubadas a 36°C durante 20h e, posteriormente, passaram por avaliação visual. A concentração inibitória mínima foi definida como aquela em que não foi observado crescimento bacteriano, caracterizado pela não turvação do meio.

De acordo com o CLSI (2019), os pontos de corte ($\mu\text{g/mL}$) considerados para classificar as cepas como resistentes são: Amoxicilina com Clavulanato: > 8 ; Colistina: > 2 ; Ciprofloxacina: $> 0,5$; Ceftriaxona: > 2 .

3.3. Pesquisa de genes de virulência e de resistência antimicrobiana

A extração do DNA genômico foi realizada por kit comercial *Wizard Genomic DNA Purification Kit* (Promega), de acordo com o protocolo descrito pelo fabricante.

Utilizando o kit GoTAQ® Green Master Mix (Promega), realizou-se as reações de PCR para os genes *ompC*, *avrA*, *sodC*, *invA*, *sefA*, *agfA*, *lpfA* e *luxS*. Os genes *blaTEM* e *blaSHV*; *qnrA* e *qnrS* foram pesquisados em estirpes classificadas como resistentes a antimicrobianos na CIM. Os *primers*, tamanho do amplicon e referências estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Concentração, amplicon e referência de primers utilizados na identificação de genes específicos nas cepas de *Salmonella* Heidelberg.

Gene	Concentração	Amplicon (PB)	Primer	Referência
<i>ompC</i>	10 pmol	204	ATCGCTGACTTATGCAATCG CGGGTTGCGTTATAGGTCTG	(JAWAD; ALCHARRAKH, 2016)
<i>avrA</i>	20 pmol	385	GTTATGGACGGAACGACATCGG ATTCTGCTCCCGCCGCC	(PRAGER et al., 2003)
<i>sodC</i>	20 pmol	500	ATGAAGCGATTAAGTTTAGCGATGG TTAATGACTCCGCAGGCGTAACGC	(SANJAY et al., 2008)
<i>invA</i>	10 pmol	284	GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	(OLIVEIRA et al., 2002)
<i>sefA</i>	10 pmol	488	GATACTGCTGAACGTAGAAGG GCGTAAATCAGGATCTGCAGTAGC	(OLIVEIRA et al., 2002)
<i>agfA</i>	10 pmol	350	TCCACAATGGGGCGGCGGCG CCTGACGCACCATTACGCTG	(COLLINSON et al., 1993)
<i>lpfA</i>	10 pmol	250	CTTTCGCTGCTGAATCTGGT CAGTGTTAACAGAAACCACT	(HEUZENROEDER et al., 2000)
<i>luxS</i>	20 pmol	1080	GATAATCCTGAACTAAGCTTCTCCGC GATAATCCTGAACTAAGCTTCTCCGC	(CHOI et al., 2007)
<i>blaTEM</i>	10 pmol	643	CAGCGGTAAGATCCTTGAGA ACTCCCCGTCGTGTAGATAA	(CHEN et al., 2004)
<i>blaSHV</i>	10 pmol	714	GGCCGCGTAGGCATGATAGA CCC GGCGATTTGCTGATTTT	(CHEN et al., 2004)
<i>qnrA</i>	10 pmol	580	AGAGGATTTCTCACGCCAGG TGCCAGGCACAGATCTTGAC	(CATTOIR et al., 2007)
<i>qnrS</i>	10 pmol	428	GCAAGTTCATTGAACAGGGT TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG	(CATTOIR et al., 2007)

Os reagentes da PCR foram preparados em microtubos e a solução resultante teve volume final de 25µL, composta por 1 µL de DNA, 1,25 µL de primers forward e reverse na concentração de 10 pmol/µL, 10,25 µL de água ultrapura, 12,5 µL de Taq Green. Após amplificação em termociclador (Eppendorf®), com ciclo inicial de

desnaturação a 94°C durante 5 minutos e 35 ciclos destinados à amplificação: desnaturação a 94°C durante 45 segundos, anelamento a 58°C por 30 segundos (*invA* e *ompC*); 50°C por 30 segundos (*sefA* e *lpfA*), 66°C por 30 segundos (*agfA*), 62°C (*avrA*, *sodC* e *luxS*); extensão à 72°C por 90 segundos; e extensão final a 72°C durante 10 minutos. Utilizamos como controle positivo da PCR a cepa *S. enteritidis* ATCC 13076 e, como controle negativo, água ultrapura.

As reações para os genes de resistência aos beta-lactâmicos obedeceram às condições: ciclo inicial de desnaturação a 94° C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 50°C por 45 segundos (*blaTEM*) e 56°C durante 45 segundos (*blaSHV*), extensão a 72°C por 30 segundos e extensão final a 72°C por 10 minutos. Quanto aos genes *qnrA* e *qnrS*, a desnaturação inicial foi de 95°C por 10 minutos, em sequência 35 ciclos de desnaturação a 95°C durante 1 minuto, anelamento a 54°C por 1 minuto, extensão a 72°C por 90 segundos, e finalmente, extensão final a 72°C durante 10 minutos. O controle positivo da PCR foi uma cepa isolada a campo de *Klebsiella pneumoniae*. A tabela 3 resume as condições de amplificação no termociclador.

Tabela 3 – Condições de amplificação dos genes

Gene	Desnaturação Inicial	Número de Ciclos	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão Final
<i>invA, ompC</i>				58°C (30s)		
<i>sefA, lpfA</i>	94°C (5min)	35	94°C (45s)	50°C (30s)	72°C (90s)	
<i>agfA</i>				66°C (30s)		
<i>avrA, sodC, luxS</i>				62°C (30s)		
<i>blaTEM</i>	94°C (5min)	30	94°C (30s)	50°C (45s)	72°C (30s)	72°C (10 min)
<i>blaSHV</i>				56°C (45s)		
<i>qnrA</i>	95°C (10min)	35	95°C (1min)	54°C (1min)	72°C (90s)	
<i>qnrS</i>						

Os produtos amplificados (8µL) foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, utilizando o tampão de corrida TBE 0,5x (*Invitrogen*®) e como padrão de peso molecular, o marcador de 100pb (*Invitrogen*®). Os géis de agarose (*Afflymetrix*®) foram corados pela solução de *SYBR*® *Safe DNA gel stain* (*Invitrogen*®). Após 90 minutos de resolução do gel à 100W de potência, 80V de

voltagem e 80A de corrente elétrica, os mesmos foram visualizados, sob luz UV, no transiluminador (*Loccus Biotecnologia*).

3.4. Análise dos resultados

A análise dos resultados foi realizada por meio da estatística descritiva. Para avaliar se havia diferenças entre as resistências das cepas aos antimicrobianos testados foi aplicado o teste de Fisher com o auxílio do programa GraphPad Prism, versão 7.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Resistência antimicrobiana

A determinação da susceptibilidade aos antimicrobianos pela CIM demonstrou que as 20 cepas de *Salmonella* Heidelberg (100%) possuíam resistência à colistina, 18 (90,0%) à ceftriaxona, 12 (60,0%) à amoxicilina+clavulanato e 2 (10,0%) à ciprofloxacina (Tabela 4). Esses dados demonstram uma situação problemática, porque alguns dos antibióticos que foram testados são de eleição e frequentemente utilizados na terapêutica de humanos e animais que desenvolvem salmonelose.

Tabela 4: Distribuição da CIM e índice de resistência de *Salmonella* Heidelberg.

Concentração do antibiótico (µg/mL)	AMO	COL	CFT	CIP
>0,5	-	-	-	18
0,5	-	-	-	-
1	2	-	2	2
2	3	-	-	-
4	1	-	2	-
8	2	7	4	-
16	1	3	-	-
32	1	7	-	-
64	10	1	3	-
>64	-	2	9	-
Total de Resistentes R (%)	12 ^a 60,00%	20 ^a 100,00%	18 ^a 90,00%	2 ^b 10,00%

Legenda: AMO – amoxicilina com ácido clavulânico; COL - colistina; CFT - ceftriaxona; CIP - ciprofloxacina; __ (linha) – ponto de corte de acordo com CLSI, 2019 e R (%) - índice de resistência. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa (Teste de Fisher $p < 0,05$).

Em um monitoramento realizado pela *European Food Safety Authority* (EFSA) durante o ano de 2014, 5,5% (37/673) de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carcaças de frango foram classificadas como resistentes à colistina (EFSA, 2016). Posto isso, o fato de todas as cepas serem resistentes à colistina em nossa pesquisa

é extremamente preocupante, mas de certa forma esperado, já que esse fármaco foi utilizado como aditivo zootécnico promotor de desempenho em formulações de rações para animais de produção até o ano de 2009, no qual seu uso foi vedado para esse fim por meio da Instrução Normativa 26/2009 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2009). O uso indiscriminado do antimicrobiano provavelmente colaborou com a pressão de seleção de cepas resistentes no decorrer dos anos (FAO/WHO, 2009).

Folster e colaboradores (2017) testaram a resistência aos antimicrobianos de 114 cepas de *Salmonella* envolvidas em surtos nos Estados Unidos da América entre os anos de 2011 e 2012. Dentre elas, 12/144 (10,5%) foram classificadas como resistentes a ceftriaxona. Estes índices de resistência são inferiores aos obtidos neste estudo, pois detectamos uma elevada taxa (90%) de cepas resistentes às cefalosporinas de terceira geração (ceftriaxona), que é considerado alarmante, já que é um antibiótico de escolha para o tratamento de humanos com salmonelose. Além disso, a ceftriaxona é destacada pela OMS como um fármaco extremamente importante por ser uma das poucas opções para a resolução de casos de infecções graves em humanos e é um dos antimicrobianos de eleição para o tratamento de crianças com salmonelose (FAO/WHO, 2009; STEFANI et al., 2018).

A resistência aos antimicrobianos betalactâmicos pode estar correlacionada com a presença de alguns genes conhecidos vinculados à síntese de enzimas betalactamases (*blaAmpC*, *blaCTX-M*, *blaTEM* e *blaSHV*), e esse quadro pode ser agravado pela possibilidade de transferência de material genético de cepas que os portam para outras bactérias, transmitindo, dessa forma, a característica de resistência (GIURIATTI et al., 2017). Este estudo detectou, dentre as cepas, a presença do gene *blaTEM* em somente uma das 12 cepas resistentes à amoxicilina (1/12 – 8,3%), o que pode justificar sua resistência. Com relação às outras cepas, esse perfil de resistência provavelmente é originado por outros mecanismos, como o estabelecimento de bombas de efluxo que tornam os micro-organismos resistentes a diversos antimicrobianos (LI et al., 2019).

A menor resistência observada em nosso estudo foi à ciprofloxacina (2/20 – 10% das cepas testadas). Os genes de resistência à classe das quinolonas (*qnrS*, *qnrA* e *qnrB*) já foram detectados em *Salmonella* em nosso país (PRIBUL et al., 2016).

No entanto, esta pesquisa não identificou cepas positivas para os genes *qnrS* e *qnrA* e o gene *qnrB* não foi pesquisado nesse estudo.

Ao se avaliar os perfis de resistência, a porcentagem de cepas resistentes a múltiplos antibióticos é alarmante. Doze cepas (60,0%) foram resistentes a três antimicrobianos (Tabela 5). Destas, 2/12 (16,7%) possuíam resistência a todos os fármacos testados e possuíam a mesma origem, a granja do produtor (1). Esta constatação permite inferir que o manejo adotado nas granjas pode favorecer a emergência de cepas multirresistentes, incluindo práticas como o uso inadequado de antimicrobianos ou que favoreçam a formação de biofilmes, que facilita o intercâmbio de material genético que carregam a informação de bombas de efluxo (MOUTTOTOU et al., 2017).

Tabela 5: Perfil de resistência das cepas de *Salmonella* Heidelberg no Brasil.

Perfis de Resistência	N (%)	Empresa	Produtor
P1: COL, CFT, AMO, CIP	2 (10)	A, E	1
P2: COL, CFT, AMO	10 (50)	A, B, C, D, F	1, 2, 3, 4
P3: COL, CFT	6 (30)	A, H	1, 2, 3, 5
P4: COL	2 (10)	D, G	1
Total	20 (100)		

Legenda: COL – colistina; CFT – ceftriaxona; AMO – amoxicilina com ácido clavulânico; CIP – ciprofloxacina.

4.2. Genes específicos

Todas as cepas (100%) possuíam o gene *ompC*. Dos sete genes de virulência avaliados, 100,0% das cepas possuem cinco deles: *invA*, *sodC*, *avrA*, *lpfA* e *agfA*, 14 cepas (70,0%) foram positivas para o gene *luxS* e nenhuma cepa foi positiva para o gene *sefA*.

Já era esperada a detecção dos genes *ompC* e *invA*, relacionados a síntese de uma proteína da membrana externa e invasão de células epiteliais, respectivamente, em todas as cepas, pois esses dois genes são usados na identificação de bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella*. O gene *ompC* é o mais específico para a

identificação do gênero e o indicado na literatura atual para esta finalidade por ser um gene altamente conservado dentro dos sorotipos de *Salmonella* (NUGRAHA et al., 2019).

Os genes *agfA* e *lpfA*, também detectados em 100% das cepas, carregam informação para sintetizar fímbrias que possuem adesinas necessárias à infecção e fixação a superfícies, fase inicial para formação de biofilmes. Algumas pesquisas apontam a existência de mais ações dessas fímbrias durante a colonização intestinal e manifestação da virulência no hospedeiro (BORGES et al., 2013).

De modo análogo, o gene *sefA* é responsável por carregar a informação para codificar uma fímbria importante à adesão. No entanto, este gene não está presente em todos os sorovares de *Salmonella*, somente em sorovares do grupo D, nos sorotipos Enteritidis, Dublin, Moscow e Blegdon (AMINI et al., 2010), o que explica sua não detecção em nosso estudo. Independente da falta de relatos na literatura, a investigação do gene *sefA* em outros sorovares de *Salmonella* é válida, já que pode haver transferência de genes entre bactérias por recombinação gênica, sendo importante o monitoramento da ocorrência desses eventos.

A maioria das cepas de *S. Heidelberg* estudadas (14/20 - 70%) são potencialmente capazes de se aderir às superfícies e iniciar a construção de um biofilme. No entanto, 6/20 (30%) delas não possuíam o gene *luxS*, que está relacionado ao sistema *quorum sensing*, o que provavelmente as impede de formar um biofilme estável (HARDIE, 2008).

Um importante gene de virulência em bactérias do gênero *Salmonella* é o *avrA*. Esse gene codifica proteínas bacterianas efetoras primordiais à infecção e multiplicação bacteriana por promover evasão ao sistema imune do hospedeiro. Seu modo de operação é induzir apoptose celular, ação que dificulta a resposta do organismo à infecção (LABRIOLA et al., 2018). Este gene é muito preservado em sorovares de *Salmonella* relevantes à saúde pública e *S. Heidelberg* está inclusa nesse grupo, o que justifica sua detecção em 100% das cepas deste estudo.

Por fim, dentre as 12 cepas classificadas nesse estudo como resistentes a três ou mais antimicrobianos, 10/12 (83,3%) estão entre as cepas consideradas potencialmente mais virulentas, por possuírem o gene *luxS* além dos outros seis genes de virulência encontrados em todas as cepas testadas. Dessas 10 estirpes,

6/10 (60%) têm como origem a granja do produtor 1. Esse dado corrobora a ideia acerca da influência do manejo empregado sobre a seleção de linhagens de microorganismos mais virulentos e mais resistentes a antimicrobianos.

Os achados de cepas de *S. Heidelberg* resistentes a antimicrobianos importantes para o tratamento de infecções humanas e virulentas refletem a situação atual, ligada ao aumento da pressão seletiva por uso indiscriminado de antimicrobianos, da recombinação gênica e ao ganho de bombas de efluxo para eliminação de diversos antimicrobianos. Tais dados nos alertam sobre a gravidade associada à infecção por *Salmonella Heidelberg* e à dificuldade em estabelecer um tratamento adequado à doença (WAJID et al., 2018).

5. CONCLUSÃO

Verificamos a existência de cepas de *S. Heidelberg* resistentes, em ordem decrescente à colistina, à ceftriaxona, à amoxicilina+clavulanato e à ciprofloxacina, e virulentas, já que 100% possuem os genes *ompC*, *invA*, *sodC*, *avrA*, *lpfA* e *agfA*, o que pode representar um sério problema para a saúde pública pela dificuldade em estabelecer terapêutica apropriada e à magnitude dos sinais clínicos, caso venham a infectar humanos.

REFERÊNCIAS

- ALCAINE, S. D.; WARNICK, L. D.; WIEDMANN, M. Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal *Salmonella*. **Journal of Food Protection**, v.70, n.3, p. 780-790, 2007.
- ALMEIDA, R. Surtos por *Salmonella*: dados estatísticos, sintomas e prevenção. **Food Safety Brazil**. 2015. Disponível em: < <https://foodsafetybrazil.org/surtosporsalmonella-dados-estatisticos-sintomas-e-prevencoes/>>. Acesso em: 14 setembro 2020.
- AMINI, K.; SALEHI, T. Z.; NIKBAKHT, G.; RANJBAR, R.; AMINI, J.; ASHRAFGANJOOEI, S.B. Molecular detection of *invA* and *spv* virulence genes in *Salmonella enteritidis* isolated from human and animals in Iran. **African Journal of Microbiology Research**. v.4, n.21, p. 2202-2210, 2010.
- AN, D.; PARSEK, M. R. The promise and peril of transcriptional profiling in biofilm communities. **Current Opinion in Microbiology**, v.10, n.3, p.292-296, 2007.
- ANDERSSON, M. I.; MACGOWAN A. P. Development of the quinolones. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, ed. 51, Suppl v. 1, p. 1-11, 2003.
- ANDREATTI FILHO, R. L.; PATRÍCIO, I. S. Biossegurança da granja de frangos de corte. In: MENDES, A. A.; NÄÄS, I. A.; MACARI, M. **Produção de Frangos de Corte**. Campinas: FACTA, p.169-177, 2004.
- ANTUNES, P.; MOURÃO, J.; CAMPOS, J.; PEIXE, L. Salmonellosis: the role of poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 2, p. 110–121, 2016.
- ARROYO, L. A.; HERRERA, C. M.; FERNANDEZ, L.; HANKINS, J. V.; TRENT, M. S.; HANCOCK, R. E. W. The *pmrCAB* Operon Mediates Polymyxin Resistance in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and Clinical Isolates through Phosphoethanolamine Modification of Lipid A. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**. v. 55, n. 8 p. 3743, 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual ABPA 2020**. São Paulo, 158p., 2020. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf> Acesso em: 14 setembro 2020.
- BACK, A. **Manual de doença de aves**. 2.ed. Cascavel, Integração, 2010.
- BARROW, P. A.; FREITAS NETO, O. C. Pullorum disease and fowl typhoid - new thoughts on old diseases: a review. Avian pathology: **Journal of the W.V.P.A.**, Abingdon, v. 40, n. 1, p. 1-13, 2011.
- BASSANI, J. **Eficácia de sanitizantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella* Heidelberg isoladas de fontes avícolas em 2006 e 2016**. 66p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, 2017.

BAÚ, D.; SIQUEIRA, M. R.; MOOZ, E. D. *Salmonella* - Agente Epidemiológico Causador De Infecções Alimentares: Uma Revisão. **XX Congresso Brasileiro De Economia Doméstica**. p. 1–10, 2015

BOLON M. K. The newer fluoroquinolones. **Medical Clinics of North America**. 8° ed, v. 95, n. 4 p. 793-817, 2011.

BORGES, K. A.; FURIAN, T. Q.; BORSOI, A.; MORAES, H. L. S.; SALLE, C. T. P.; NASCIMENTO, V. P. Detection of virulence-associated genes in *Salmonella* Enteritidis isolates from chicken in South of Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1416-1422, 2013.

BORGES, K. A.; FURIAN, T. Q.; SOUZA, S. N.; SALLE, C. T. P.; MORAES, H. L. S.; NASCIMENTO, V. P. Antimicrobial Resistance and Molecular Characterization of *Salmonella enterica* Serotypes Isolated from Poultry Sources in Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 21, n. 1, p. 01-08, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no 253, de 16 de setembro de 2003. Cria o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de origem Animal – PAMVet. **Diário Oficial da União**, 18 set. 2003b. Seção 1, p. 90-91.

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

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Update functional classification of beta-lactamases. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969-76, 2010.

CASTILLA, K. S. **Detecção de genes de virulência em diferentes fenótipos e ribotipos de *Salmonella* Enteritidis utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR)**. 76f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

CATTOIR, V.; POIREL, L.; NORDMANN, P. In-vitro mutagenesis of *qnrA* and *qnrS* genes and quinolone resistance in *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 1, n. 9, September, 2007.

CDC - Centers For Disease Control And Prevention. **Salmonella**. 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>. Acesso em: 14 setembro 2020

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). 2016. National Enteric Disease Surveillance: **Salmonella Annual Report, 2013**: Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, 89p. Disponível em: <https://www.cdc.gov/nationalsurveillance/pdfs/salmonella-annual-report-2013-508c.pdf>; Acesso em: 14 setembro 2020.

CHAPPELL, L.; KAISER, P.; BARROW, P.; B, JONES, M. A.; JOHNSTON, C.; WIGLEY, P. The immunobiology of avian systemic salmonellosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 128, n. 1-3, p. 53-59, 2009.

CHOI, J.; SHIN, D.; RYU, S. Implication of Quorum Sensing in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Virulence: the *luxS* Gene Is Necessary for Expression of Genes in Pathogenicity Island. **Infection And Immunity**, p. 4885–4890, 2007.

CLSI - Clinical And Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-third informational supplement. **CLSI M100-S23**, Wayne, 2019.

COLLA, F. L.; RODRIGUES, L. B.; BORSOI, A.; DICKEL, E. L.; NASCIMENTO, V. P.; SANTOS, L. R. Isolamento de *Salmonella* Heidelberg em diferentes pontos da tecnologia de abate de frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 4, 2012.

COLLINSON, S. K.; DOIG, P. C.; DORAN, J. L.; CLOUTHIER, S.; TRUST, T. J.; KAY, W. W. Thin, aggregative fimbriae mediate binding of *Salmonella enteritidis* to fibronectin. **Journal Of Bacteriology**, p. 12-18, 1993.

COSTA, A. L. P. **Resistência Bacteriana aos Antibióticos: Uma Perspectiva Do Fenômeno Biológico, Suas Consequências e Estratégias De Contenção**. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, UNIFAP, Macapá, 2016.

DEMEZUK, W.; SOULE, G.; CLARK, C. Phage-based typing scheme for *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg, a causative agent of food poisonings in Canada. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, n.9, p.4279-4284, 2003.

DUARTE, D. A. M.; RIBEIRO, A. R.; VASCONCELOS, A. M. M.; SANTOS, S. B.; SILVA, J. V. D.; ANDRADE, P. L. A.; FALCÃO, L. S. Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 569-573, 2009.

EFSA - European Food Safety Authority. **Salmonella**. 2019. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella>. Acesso em: 14 setembro 2020.

EFSA - European Food Safety Authority. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. **EFSA Journal**, v.14, p. 207, 2016

EVANS, M. E.; FEOLA, D. J.; RAPP, R. P. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics is emerging multiresistant gram-negative bacteria. **Annals of Pharmacotherapy**. v. 33, p. 960-67, 1999.

FALAGAS, M. E.; KASIAKOU, S. K. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. **Clinical Infectious Diseases**. V.40, p. 1333–41, 2005.

FAO / WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization. *Salmonella* and Campylobacter in chicken meat: Meeting report. **Microbiological Risk Assessment Series 19**, Roma, 56p., 2009.

FOLEY, S. L.; NAYAK, R.; HANNING, I. B.; JOHNSON, T. J.; HAN, J.; RICKE, S. C. Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. **Applied and Environmental Microbiology**, v.77, n.13, p. 4273–4279, 2011.

FOLSTER, J. P.; PECIC, G.; RICKERT, R.; TAYLOR, J.; ZHAO, S.; FEDOR-KACRAY, P. J. Characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from a ground turkey-associated outbreak in the United States in 2011. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**. V. 56, n. 6, p. 3465-6, 2012.

FOLSTER, J. P.; GRASS, J.E.; BICKNESE, A.; TAYLOR, J.; FRIEDMAN, C. R.; WHICHARD, J. M. Characterization of Resistance Genes and Plasmids from Outbreaks and Illness Clusters Caused by *Salmonella* Resistant to Ceftriaxone in the United States, 2011–2012. **Microbial Drug Resistance**. V. 23, n. 02, 2017.

FUNDAÇÃO INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Cartilha de resistência bacteriana aos antibióticos. 2 ed. **Fiocruz** – Rio de Janeiro, 2017.

GIBSON, D.L.; WHITE, A. P.; RAJOTTE, C. M.; KAY, W. W. *AgfC* and *AgfE* facilitate extracellular thin aggregative fimbriae synthesis in *Salmonella* Enteritidis. **Society for General Microbiology Journals**, v.153, n.4, p.1131- 1140, 2007.

GIURIATTIA, J.; STEFANIA, L. M.; BRISOLA, M. C.; CRECENCIO, R. B.; BITNER, D. S.; FARIA, G. A. *Salmonella* Heidelberg: Genetic profile of its antimicrobial resistance related to extended spectrum β -lactamases (ESBLs). **Microbial Pathogenesis**, v. 109, p. 195-199, 2017.

GONÇALVES, R. C.; FALEIRO, J. H.; SANTOS, M. N. G.; CARVALHO, S. A.; MALAFAIA, G. Micro-organismos emergentes de importância em alimentos: uma revisão da literatura. SaBios: **Revista de Saúde e Biologia**, v.11, n.2, p.71-83, maio 2016.

GOVERNMENT OF CANADA. National Enteric Surveillance Program Annual Summary 2016. **Public Health Agency of Canada**, Guelph, 2018.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9th ed. Paris: WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*. **Institut Pasteur**: Paris, 2007.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M, T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUMBO, T. Princípios gerais do tratamento antimicrobiano. In: BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, p. 1365-1381, 2012.

GUTKIND, G. O.; DI CONZA, J. POWER; P. RADICE, M. Beta-lactamase - mediated resistance: a biochemical, epidemiological and genetic overview. **Currente Pharmaceutical Dedign**; v.19, n. 2, p. 164-208, 2013.

HARDIE, K. R.; HEURLIER, K. Establishing bacterial communities by 'word of mouth': *LuxS* and autoinducer 2 in biofilm development. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, n. 8, p. 635-43, 2008.

HEUER O. E.; KRUSE, H.; GRAVE, K.; COLLIGNON, P.; KARUNASAGAR, I.; ANGULO, F. J. Human health consequences of use of microbial agents in aquaculture. **Clinical Infectious Diseases**. v. 49, p. 1248-53, 2009.

HEUZENROEDER M. W.; MURRAY, C.J.; DALCIN, R. M. Molecular basis of benign colonization of *Salmonella* Sofia in chickens. **Rural Industries R&D Corporation**, v.1, p. 106. 2000.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S. J.; REIS E. M. F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.17, n.2, p. 55-62, 1997.

JAWAD, A. A.; AL-CHARRAKH, A. H. Outer Membrane Protein C (*ompC*) Gene as the Target for Diagnosis of *Salmonella* Species Isolated from Human and Animal Sources. **Avicenna Journal of Medical Biotechnology**. v. 8, n. 1, p. 42-45, 2016.

JU, X.; LI, J.; ZHU, M.; LU, Z.; LV, F.; ZHU, X.; BIE, X. Effect of the *luxS* gene on biofilm formation and antibiotic resistance by *Salmonella* serovar Dublin. **Food Research International**, v. 107, p. 385-393, 2018.

KOTTWITZ, L. B. M.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; ALCOGER, I.; FARAH, S. M. S. S.; ABRAHÃO, W. S. M.; RODRIGUES, D.P.R. Epidemiology of Salmonellosis outbreaks occurred in the period of 1999-2008 in the state of Paraná, Brazil. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v.32, n. 1, p. 9-15, 2010.

LABRIOLA, J. M.; ZHOU, Y.; NAGAR, B. Structural Analysis of the Bacterial Effector *AvrA* Identifies a Critical Helix Involved in Substrate Recognition. **Biochemistry**, v.57 n.33, p.4985-4996, 2018.

LEE, C.; SU, L.; CHIA, J.; TSAI, K.; WU, T.; LIU, J. Containing *Klebsiella pneumoniae* Strain after Prolonged Treatment with First-Generation Cephalosporins for Mycotic Aneurysm. **Microbial Drug Resistance** Vol. 10, No. 4, 2004.

LI, J.; ZHANG, H.; NING, J.; SAJID, A.; CHENG, G.; YUAN, Z.; HAO, H. The nature and epidemiology of OqxAB, a multidrug efflux pump. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 8, n. 44, p. 1-13, fev. 2019.

LIVERMORE, D. M.; WOODFORD, N. The beta-lactamase threat in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinobacter*. **Trends in Microbiology**. v. 14, p. 413-420, 2006.

MENDONÇA, E. P. **Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil**. 2016. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

MIRMOMENI, M. H.; KIANI, S.; SISAKHTNEZHAD, S. Rapid detection of *Salmonella* Dublin by PCR amplification of the *sopE* gene and its cloning. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.11, n.11, p.1497-1501, 2008.

MOUTTOTOU, N. K.; AHMAD, S.; KOUTOULIS, K. C. Prevalence, Risks and Antibiotic Resistance of *Salmonella*. In Poultry Production Chain. **Current Topics in Salmonella and Salmonellosis**. Zagreb: IntechOpen, 2017. p. 215-228

NAAS, T.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Minor extended-spectrum beta-lactamases. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p. 42-52, 2008.

NICOLAOU, K. C.; MONTAGNON, T.; **Molecules that Changed the World**, WileyVCH: Weinheim, cap. 13, 2008.

NUGRAHA, M. N. R.; NURJANAH, P. P. Detection of *Salmonella* sp. in fisheries product using realtime PCR. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. V.404, n. 01, 2019.

OCHOA, I. M. F.; RODRIGUEZ, A. V. Mecanismos moleculares de patogenicidade de *Salmonella* sp. **Revista Latino Americana de Microbiología**, v.47, n.1, p.25-42, 2005.

OLIVEIRA, A. P.; SOLA, M.; COSTA, J.; MENEZES, N.; DE OLIVEIRA, J. *Salmonella enterica*: genes de virulência e ilhas de patogenicidade. **Enciclopédia biosfera - centro científico conhecer**, v. 9. n. 16, p. 1947-1972, 2013.

OLIVEIRA, S. D.; SANTOS, L. R.; SCHUCH, D. M. T.; SILVA, A. B.; SALLE, C. T. P.; CANAL, C. W. Detection and identification of salmonellas from poultry-related samples by PCR. **Veterinary Microbiology**. v. 87, n. 1, p. 25-35, 2002.

PACELLO, F.; BATTISTONI, A.; AMMENDOLA, S.; CECI, P.; CHIANCONE, E. Periplasmic Cu, Zn superoxide dismutase and cytoplasmic Dps concur in protecting *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from extracellular reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica**. p. 226–232, 2008.

PANDINI, J. A.; da SILVA PINTO, F.G.; MULLER, J.M.; WEBER, L.D.; de MOURA, A.C. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.82, p.1-6, 2014.

PRAGER, R.; RABSCH, W.; STRECKEL, W.; VOIGT, W.; TIETZE, E.; TSCHÄPE, H. Molecular Properties of *Salmonella enterica* Serotype Paratyphi B Distinguish between Its Systemic and Its Enteric Pathovars. **Journal Of Clinical Microbiology**. p. 4270–4278, 2003.

PRIBUL, B. R.; FESTIVO, M. L. SOUZA, M. M. S.; RODRIGUES, D. P. Characterization of quinolone resistance in *Salmonella* spp. isolates from food products and human samples in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 47, n.1, Jan./Mar. 2016.

PULIDO-LANDÍNEZ, M.; SÁNCHEZ-INGUNZA, R.; GUARD, J.; do NASCIMENTO, V. P. Assignment of serotype to *Salmonella enterica* isolates obtained from poultry and their environment in southern Brazil. **Letters in Applied Microbiology**, v.57, n.4, p.288-294, 2013.

ROBICSEK, A.; STRAHILEVITZ, J.; SAHM, D. F.; JACOBY, G. A.; HOOPER, D. C. qnr prevalence in ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae isolates from the United States. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**; v. 50, n. 8, p. 2872-2874, 2006.

SANTOS, J. R; MEZA, S. K. L.; MARTINI, K. C.; NUNES, R. V. A importância do controle da *Salmonella* na cadeia produtiva de frango de corte. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 3, p.167-174, 2013.

SCHMIDT, H.; HENSEL, M. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.19, n.1, p.14-56, 2004.

SHAH, D. H.; PAUL, N. C.; SISCHO, W. C.; CRESPO R.; GUARD J. Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated *Salmonella* serotypes. **Poultry Science** v. 96, p. 687-702, 2017.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

SOHEI, H.; YOSHIKAZU, I., KEIZO, Y. Extended-spectrum β -Lactamases: Implications for the Clinical Laboratory and Therapy. **The Korean Journal of Laboratory Medicine**; v. 28, p. 401-412, 2008.

STEFANI, L. M.; NEVES, G. B.; BRISOLA, M. C.; CRECENCIO, R. B.; PICK, E. C.; ARAUJO, D. N. *Salmonella* Heidelberg resistant to ceftiofur and disinfectants routinely used in poultry. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 39, n. 3, p. 1029-1036, maio/jun. 2018

STORM, D. R.; ROSENTHAL, K. S.; SWANSON, P. E. Polymyxin and related peptide antibiotics. **Annual Review of Biochemistry**, v. 46, p. 723–63, 1977.

SUN, J.; HOBERT, M. E.; RAO, A. S.; NEISH, A. S.; MADARA, J. L. Bacterial activation of catenin signaling in human epithelia. **The American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.287, p. 220–227, 2004.

SUZUKI, S. Pathogenicity of *Salmonella* Enteritidis in poultry. **Internacional Journal of Food Microbiology**, v.21, n.1-2, p.89-105, 1994.

TAMANG, M. D.; NAM, H.; KIM, T., JANG; G. JUNG, S.; LIM, S. Emergence of extended-spectrum b-lactamase (CTXM-15 and CTX-M-14) - producing nontyphoid *Salmonella* with reduced susceptibility to ciprofloxacin among food animals and humans in Korea. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 7, p. 2671-2675, 2011.

VAN ASTEN, A. J. A. M.; VAN DIJK, J. E. Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonella* spp. **Fems Immunology and Medical Microbiology**, v.44, n.3, 251- 259, 2005.

VAN BAMBEKE, F.; MICHOT, J. M.; VAN ELDERE, J.; TULKENS, P. M. Quinolones in 2005: an update. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 11, n. 4, p. 256-80, 2005.

VIEIRA, M. A. Ilhas de patogenicidade. **O Mundo da Saúde**. v. 33, n. 4, p. 406-414, 2009.

VILA-FARRÉS, X.; FERRER-NAVARRO, M.; CALLARISA, A. E.; MARTÍ, S.; ESPINAL, P.; GUPTA, S.; ROLAIN, J. M.; GIRALT, E.; VILA, J. Loss of LPS is involved in the virulence and resistance to colistin of colistin-resistant *Acinetobacter nosocomialis* mutants selected in vitro. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 11, p. 2981-2986, 2015.

VOSS-RECH, D.; VAZ, C. S. L.; ALVES, L.; COLDEBELLA, A.; LEÃO, J. Á.; RODRIGUES, D. P.; BACK, A. A temporal study of *Salmonella enterica* serotypes from broiler farms in Brazil. **Journal of Poultry Science**, v. 94, n. 3, p. 433-441, 2015.

WAJID, M.; AWAN, A.B.; SALEEMI, M.K.; WEINREICH, J.; SCHIERACK, P.; SARWAR, Y.; ALI, A. Multiple drug resistance and virulence profiling of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Enteritidis from poultry farms of Faisalabad, Pakistan. **Microbial Drug Resistance**, v.25, n.1, p.133-142. 2018.

WHITE, A. P.; GIBSON, D. L.; COLLINSON, S. K.; BANSER, P. A.; KAY, W. W. Extracellular polysaccharides associated with thin aggregative fimbriae of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. **Journal of Bacteriology**, v.185, n.18, p.5398-5407, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Salmonella (non-typhoidal)**. 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: 14 setembro 2020.