

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

BÁRBARA DE ARAÚJO BRUM

**NANOCONTROLE DA TRANSFERÊNCIA
HORIZONTAL DE GENE DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM
BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA EM ALIMENTOS**

Uberlândia - MG

2022

BÁRBARA DE ARAÚJO BRUM

**NANOCONTROLE DA TRANSFERÊNCIA HORIZONTAL DE
GENE DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM BACTÉRIAS DE
IMPORTÂNCIA EM ALIMENTOS**

Projeto de pesquisa apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso I.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Roberta Torres Melo

Coorientadora: Ms. Micaela Guidotti Takeuchi

Uberlândia - MG

2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

B893 Brum, Bárbara de Araújo, 1995-
2022 NANOCONTROLE DA TRANSFERÊNCIA HORIZONTAL DE GENE DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM BACTÉRIAS DE IMPORTANCIA EM ALIMENTOS [recurso eletrônico] / Bárbara de Araújo Brum. - 2022.

Orientadora: Roberta Torres Melo.
Coorientadora: Micaela Guidotti Takeuchi.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação)
Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Medicina Veterinária.

Modo de acesso: Internet.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária. I. Melo, Roberta Torres, 1987-, (Orient.). II. Takeuchi, Micaela Guidotti, 1982-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Medicina Veterinária. IV. Título.

CDU: 619

Bárbara de Araújo Brum

**NANOCONTROLE DA TRANSFERÊNCIA
HORIZONTAL DE GENE DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM
BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA EM ALIMENTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado para
a obtenção do título de Bacharel no curso de
Medicina Veterinária da Universidade Federal
de Uberlândia (MG) pela banca examinadora
formada por:

Uberlândia, 21 de dezembro 2022

Banca Examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Roberta Torres Melo – UFU/MG

Ms. Micaela Guidotti Takeuchi – UFU/MG

Prof^ª. Dr^ª. Daise Aparecida Rossi – UFU/MG

Dedico esse trabalho aos meus pais e meus irmãos que me ajudaram a levantar em cada queda que dei pelo percurso acadêmico e que agora podem comemorar comigo a escrita de uma das páginas mais importantes da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais Maria José e Márcio por sempre ter me incentivado a estudar e ir atrás do meu sonho de infância, que é ser veterinária. Por terem me dado força e acreditado em mim, mesmo eu não acreditando mais. Eles foram as minhas pernas quando eu não conseguia seguir sozinha. Eles são meu maior exemplo de força e sem eles eu não teria chegado até aqui.

Ao meu irmão Mário e a minha cunhada Lara por terem sido o meu primeiro lar em Uberlândia e terem me recebido tão bem. Eles foram meu porto seguro em inúmeros momentos e a minha adaptação à uma nova cidade seria ainda mais difícil sem eles.

Agradeço ao meu irmão quase gêmeo Alexandre por ele ser meu primeiro melhor amigo da vida e me entender sem eu precisar dizer uma única palavra. A minha irmã Gabriela por ser o meu primeiro e maior exemplo de pessoa estudiosa e que vai atrás do seus objetivos se esforçando ao máximo para conquistar o que quer.

Agradeço às meninas do pensionato, Samantha, Isabella, Carol, Victória, Ronara e Kimberly, por terem sido meu segundo lar, tanto nas horas de risos até a barriga doer, quanto nos momentos complicados e difíceis. E especialmente à Carol e Ronara, que definitivamente foram minha família, que se desentendem, mas que acima de tudo, querem o bem, independente de qualquer coisa.

Agradeço a minha orientadora e professora Roberta pela oportunidade e a chance de poder conhecer essa área maravilhosa e ter insistido em mim, mesmo com todas as minhas dificuldades. A Micaela, que além de ser minha co-orientadora, foi tutora, amiga e mãe, que aplaudiu cada acerto meu e não deixava eu desanimar com os erros. Agradeço a Rosanne pela paciência de me ensinar absolutamente tudo que eu pedia e ser nosso amuleto no experimento que começou a caminhar muito melhor depois que ela entrou. Agradeço a professora Daise por ter aceitado estar na minha banca, por ser essa pessoa encantadora e que tenho um carinho enorme. Todas elas são um exemplo para mim de pessoas e pesquisadoras e ainda sonho em ser pelo menos 1% do que elas são.

Agradeço pela amizade dos meus colegas de laboratório Ana Laura, Mariana, Carol, Sacha, Gabi, Thais, Fernanda, com eles tudo fica mais leve e divertido, não é atoa que é o lugar que mais gosto da UFU.

Agradeço aos meus melhores amigos que fiz na UFU, Mariana Laura e Danilo, por fazerem parte da minha trajetória e mesmo que a vida tenha separando a gente, o amor e carinho continua o mesmo e espero que eles ainda permaneçam comigo por muito tempo. Agradeço à

Yasmin e ao Tanajé por me permitirem entrar na vida deles no fim de curso, eles são um grande presente e não fazem ideia do que representam para mim. Agradeço à Carla por ser esse exemplo de pessoa, protetora e mãe, por sempre ter tido o maior carinho do mundo por mim e ser essa amiga maravilhosa.

Agradeço aos meus amigos Lorrany, Nathália, Wagner, Beatriz, Ana e Pedro por torcerem por mim de longe e ainda permitirem me manter na vida deles, seja para diversão ou para receber um ombro amigo, são pessoas que eu tenho certeza que posso sempre contar. Agradeço aos amigos que fiz e me aproximei, principalmente Bárbara e Camila, por me acompanharem em uma das coisas que eu mais gosto na vida que é ir ver o cruzeiro jogar.

E não menos importante, queria agradecer a cada cadelinha que tive na vida, Neném, Lila, Cacau, Tita, Paulina, Paola e Rubi, por representarem o amor mais puro que sinto aos animais. Eu vejo/via Deus no olhar de cada uma delas e não existe nada mais sincero que isso.

“Cada descoberta nova da ciência é uma porta nova pela qual encontro mais uma vez Deus, o autor dela.”

Albert Einstein

RESUMO

A utilização descontrolada de antibióticos vêm desencadeando o aparecimento cada vez maior de bactérias super-resistentes, sendo, portanto, uma das maiores preocupações mundiais. Além disso, atualmente, existe baixa produção de novos antimicrobianos proporcionalmente ao elevado surgimento dessas superbactérias. Como os antibióticos também são utilizados na produção animal, o aparecimento de superbactérias em produtos de origem animal (POA), vêm sendo recorrentes e de difícil eliminação na cadeia produtiva, podendo, portanto, causar doenças transmitidas por alimentos de difícil tratamento. Uma alternativa que vem mostrando resultados promissores, é a utilização de óleos essenciais combinados com nanotecnologia a fim de mitigar a transferência desses genes resistentes a outras bactérias no ambiente industrial de aves, por exemplo. Portanto, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar o efeito de carreador lipídico nanoestruturado de óleo essencial de sálvia no controle do processo de conjugação bacteriana entre cepas selvagens de *Salmonella* Heidelberg (SH01) doadora dos genes *bla*_{TEM} na sua forma planctônica e *Escherichia coli* J53 AzR (azida sódica resistente), como receptora. A avaliação foi feita por meio da determinação da frequência de transconjugantes de *E. coli* via análise fenotípica e genotípica, mediante teste de resistência antimicrobiana e PCR convencional, respectivamente. Foi feita padronização de três técnicas diferentes de conjugação e escolhida a metodologia 1, meio líquido com três horas de incubação, como a melhor de acordo com a maior frequência de conjugação e pela significância na contagem de transconjugantes, principalmente com *chicken juice* (CJ) ($p=0,0013$). Na testagem do nanocarreador, os valores da FCR foram reduzidos de 2,2% para 0,028% no teste tradicional e de 6,2 para 0,098% na conjugação utilizando CJ correspondentes a uma redução de transconjugantes de 79,6 vezes sem CJ e 67,6 vezes com CJ. Além disso, todas as colônias de transconjugantes escolhidas aleatoriamente apresentaram o gene *bla*_{TEM} identificado genotipicamente, confirmando a efetividade do processo. Dessa forma, o nanocomposto demonstrou efeito promissor como redutor/inibidor da conjugação bacteriana aplicável à indústria de aves.

Palavras chave: *bla*_{TEM}, enterobacteriaceae, *chicken juice*, resistência antimicrobiana, carreadores lipídicos nanoestruturados

ABSTRACT

The uncontrolled use of antibiotics has been triggering the increasing appearance of super-resistant bacteria, being, therefore, one of the biggest concerns worldwide. In addition, currently, there is low production of new antimicrobials in proportion to the high emergence of these superbugs. As antibiotics are also used in animal production, the appearance of superbugs in products of animal origin (POA) has been recurrent and difficult to eliminate in the production chain, and may therefore cause foodborne illnesses (DTAs) that are difficult to treat. An alternative that has been showing promising results is the use of essential oils combined with nanotechnology in order to mitigate the transfer of these resistant genes to other bacteria in the industrial environment of poultry, for example. Therefore, the main objective of this work was to evaluate the effect of a nanostructured lipid carrier of sage essential oil on the control of the bacterial conjugation process between wild strains of *Salmonella* Heidelberg (SH01) which is a donor of *bla*_{TEM} genes in its planktonic form and *Escherichia coli* J53 AzR (resistant sodium azide) as a receptor. The evaluation was performed by determining the frequency of *E. coli* transconjugants via phenotypic and genotypic analysis, using antimicrobial resistance test and conventional PCR, respectively. Three different conjugation techniques were standardized and methodology 1, liquid medium with three hours of incubation, was chosen as the best one according to the highest frequency of conjugation and the significance in the count of transconjugants, mainly with *chicken juice* (CJ) ($p=0.0013$). In testing the nanocarrier, the FCR values were reduced from 2.2% to 0.028% in the traditional test and from 6.2 to 0.098% in the conjugation using CJ corresponding to a reduction of transconjugants of 79.6 times without CJ and 67, 6 times with CJ. Furthermore, all colonies of transconjugants chosen at random presented the *bla*_{TEM} gene genotypically identified, confirming the effectiveness of the process. Thus, the nanocomposite demonstrated a promising effect as a reducer/inhibitor of bacterial conjugation applicable to the poultry industry.

Keywords: *bla*_{TEM}, *enterobacteriaceae*, *chicken Juice*, antimicrobial resistance, nanostructured lipid carriers

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO GERAL	14
2.1 Objetivos específicos	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1. Brasil e a cadeia produtiva de alimentos de origem animal	15
3.2. Principais DTA's encontradas no Brasil	16
3.3. Evolução da resistência antimicrobiana	18
3.4. Processo de conjugação e multirresistência	19
3.5. Ampicilina e o gene <i>bla</i> _{TEM}	19
3.6. Nanotecnologia e o controle de patógenos	20
3.7. Óleos essenciais de sálvia	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1. Origem do nanocomposto e reativação das cepas	24
4.2. Concentração Inibitória Mínima (CIM)	24
4.3. Conjugação bacteriana	25
4.4. Inibição da conjugação pelo nanocarreador lipídico (NLC) composto por OE de sálvia	26
4.5. Amplificação do gene <i>bla</i> _{TEM} nos transconjugantes	27
4.6. Análise estatística	27
5 RESULTADOS	28
6 DISCUSSÃO	30
7 CONCLUSÃO	32
8 REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta um extenso espaço territorial destacado pelo grande potencial de produtor e exportador agropecuário mundial (IBGE, 2022). Assim como no mercado interno, o mercado externo está cada vez mais exigente com relação à qualidade do produto, tanto com relação aos constituintes qualitativos e quantitativos e características sensoriais, quanto à biossegurança alimentar que visa um produto livre de patógenos e contaminantes responsáveis por causar danos à saúde do consumidor, ou seja, a obtenção de um alimento inócuo (MEDEIROS e ASSI, 2021).

As doenças transmitidas por alimentos (DTA's) são definidas como enfermidades ocasionadas por ingestão de alimentos e/ou água contaminadas por agentes físicos, como vidro, pedra e parafuso, químicos, como pesticidas e metais tóxicos, ou biológicos, como bactérias, vírus, fungos e parasitas (AMARAL et al. 2021 VAN AMSON et al. 2006). Bactérias são as principais causadoras de DTA's, sendo consideradas um problema de saúde pública global e importantes causadoras de morte no mundo, principalmente em países subdesenvolvidos, como o Brasil (AMARAL et al. 2021 VAN AMSON et al. 2006). É estimado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) que a cada 10 pessoas no mundo uma fica doente por DTA, morrendo cerca de 420.000 pessoas por ano (BRASIL, 2021). No Brasil, no período entre 2012-2021, houve a notificação de 6.347 surtos acometendo cerca de 104.839 de pessoas, 13.446 hospitalizados e 89 mortes. Os dados revelam que os principais agentes patogênicos responsáveis por causar DTA's no Brasil foram *Escherichia coli* com 29,6%, *Staphylococcus aureus* com 12,9% e *Salmonella spp.* com 11,2% (SVS, 2021).

Arelado à questão das DTA's, existe o aumento de bactérias multirresistentes a antibióticos. Isso ocorre em virtude da utilização de promotores de crescimento na produção animal a fim de incrementar o ganho de peso e garantir melhor sanidade do rebanho (KUMAR et al. 2020). Então, indiretamente, os alimentos de origem animal, podem ser fonte de bactérias resistentes a antimicrobianos.

Além da seleção de bactérias a partir de doses subletais de antimicrobianos na pecuária, também pode ocorrer a transferência horizontal de genes (THG) de resistência a antibióticos de uma bactéria a outra (LEKSHMI et al. 2019). A principal forma de THG é a conjugação que consiste na transferência unidirecional de um gene, podendo ser de resistência a antibiótico, com contato físico de uma bactéria doadora para uma bactéria receptora através do aparelho de conjugação chamado pili sexual (VIROLLE et al. 2020,

LERMINIAUX et al. 2019, GROHMANN et al. 2003).

Devido a este cenário e a baixa produção de novos antibióticos, existe necessidade de se obter novas alternativas para diminuir o aparecimento de novas cepas resistentes (SILVA e AQUINO, 2019). Uma das opções é a utilização de óleos essenciais incorporados a nanopartículas para serem utilizados em larga escala em indústrias alimentícias em materiais e equipamentos a fim de evitar a transferência de genes plasmidiais de resistência bacteriana. A miniaturização de partículas, representa uma estratégia promissora e vem sendo estudada em diversas áreas e será utilizada neste trabalho (ALDOSARY et al., 2023, SILVA e AQUINO, 2019).

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a atuação da nanopartícula de óleo essencial de sálvia encapsulado pela manteiga de karité no processo de conjugação entre *Salmonella enterica* sorovar Heidelberg e *Escherichia coli* nas formas livres na presença e ausência de *Chicken Juice* (CJ), com a intenção de controlar a transferência do gene *bla*_{TEM} responsável pela resistência à ampicilina.

2.2. Objetivos específicos

Padronizar e selecionar a técnica de conjugação mais efetiva na obtenção de transconjugantes resistentes a ampicilina;

Quantificar o número de transconjugantes com e sem a presença da nanoformulação;
Determinar a interferência de nanocarreadores lipídicos carreando óleo essencial de sálvia como inibidor da frequência de conjugação microbiana na presença e ausência de CJ;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Brasil e a cadeia produtiva de alimentos de origem animal

Os produtos de origem animal (POA) desempenham um importante papel na economia do Brasil, uma vez que o Brasil é um dos países que mais produz e exporta (POA) no mundo, com destaque maior para carne bovina e de aves (CAVALHEIRO et al., 2021).

Segundo a ABPA (2022), em 2021 o Brasil foi considerado como o segundo maior produtor de carne avícola do mundo por produzir cerca de 14,329 milhões de toneladas de carne de frango, com destaque para os estados do Paraná (35,54%), Santa Catarina (14,89%) e Rio Grande do Sul (13,65%), como os maiores produtores (ABPA, 2022). Do total produzido em 2021, 67,83% é destinado ao mercado interno e 32,17% para exportações; dentre eles, o Paraná (40,38%), Santa Catarina (22,95%) e Rio Grande do Sul (14,79%) são os maiores exportadores (ABPA, 2022). Os destinos para as exportações das carnes de frango são 36,76% para a Ásia e 29,78% para o Oriente Médio, sendo as carnes na forma de cortes em maior proporção (ABPA, 2022).

Com relação à carne bovina, o Brasil é o segundo maior produtor com 16,57% dos 60.572 milhões de toneladas produzidas no mundo em 2021, ficando atrás só dos EUA (CUNHA, 2021). Os estados brasileiros que mais produzem carne bovina são Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás, que concentram mais de 30% da produção (EMBRAPA, 2021). Segundo a ABRAFRIGO (2021), o Brasil exportou em 2021 um total de 1.867.594.642 quilos de carne bovina, sendo que 950.966.063 quilos foram destinados ao leste da Ásia, principalmente para a China, representando 42,2% e EUA com 10,6%. De acordo com a Conab (2021), 5.503, oito mil toneladas foram destinadas ao mercado interno do Brasil no ano de 2021.

Existem vários órgãos regulamentadores responsáveis pela inspeção e fiscalização dos POA's no Brasil, levando em consideração perigos físicos, químicos e biológicos para que o alimento esteja seguro para a alimentação humana (MEDEIROS e ASSI, 2021). Como os alimentos de origem animal apresentam uma grande quantidade de nutrientes essenciais para os micro-organismos, pH favorável e com alta atividade de água, são considerados importantes veiculadores de patógenos causadores de DTA's, que acarretam danos aos consumidores e prejuízos econômicos (SOARES e ROSINHA, 2019; SHINOHARA et al., 2019). Além disso, micro-organismos patogênicos estão presentes na

microbiota natural dos animais de corte, podendo então ocorrer contaminação no processo de abate (DE ALMEIDA et al., 2017).

Assim, é fundamental boas práticas de manipulação e qualidade sanitária com um controle rigoroso por toda cadeia produtiva da carne, desde o manejo do animal, até armazenamento em frigoríficos e redes varejistas (SHINOHARA et al., 2019).

3.2. Principais DTA's encontradas no Brasil

Mesmo com maior preocupação das pessoas com relação a segurança alimentar e avanços tecnológicos na cadeia produtiva, tanto no armazenamento, quanto na manipulação dos alimentos, as doenças transmitidas por alimentos ainda são consideradas o problema de saúde pública mais comum no mundo, principalmente em países subdesenvolvidos como o Brasil, que apresenta várias regiões com saneamento básico precário e problemas de subnotificação de casos e surtos (DA CUNHA et al., 2014; WELKER et al., 2010).

Contaminações em frigoríficos e indústrias alimentícias são consideradas problemas de segurança alimentar, pois, depois que as bactérias estão presentes nas instalações e nas linhas de processamentos, o micro-organismo é dificilmente eliminado por formar biofilmes (DE ALMEIDA et al., 2017).

Os principais alimentos que causaram os maiores surtos no Brasil, foram os produtos cárneos, sendo a carne bovina em primeiro lugar com 39%, carne de frango com 30% e embutidos com 17% (WELKER et al., 2010).

A quantidade de surtos ocasionados por bactérias é muito maior que aqueles acarretados por outros patógenos, sendo as mais comuns no Brasil e que mais causaram surtos nos anos de 2016 até 2019 *Escherichia coli* (35,7%), *Salmonella spp.*, (14,9%), e *Staphylococcus aureus*, (11,5%) (BRASIL, 2020; SIRTOLI e COMARELLA, 2018).

Escherichia coli é um bastonete, gram negativo, não esporulado, móvel, anaeróbia facultativa, pertencente à família das *Enterobacteriaceae* e considerada comensal do trato gastrointestinal em animais de sangue quente, humanos e aves (OLIVEIRA et al., 2021; SILVA DE MELO et al., 2018). Entretanto, é um dos principais agentes causadores de patologias gastroentéricas decorrentes de vários sorotipos (ABRI et al., 2019, SILVA DE MELO et al., 2018). Elas são capazes de sobreviver por longos períodos fora do trato gastrointestinal e estudos recentes demonstraram que a *E. coli* pode reproduzir em solo,

areia e sedimentos em climas tropicais, subtropicais e temperados (JANG et al., 2017).

E. coli patogênicas são classificadas de acordo com o seu mecanismo de virulência, podendo causar infecção ou toxinfecção alimentar, apresentando um período de incubação de 12 a 72 horas com duração de 2 a 7 dias (SORAGNI et al., 2019, SILVA DE MELO et al., 2018). As principais formas de infecção consistem em contato direto com animais ou humanos que apresentam a bactéria ou ingestão de alimentos contaminados como carne, salsicha, leite cru, queijo, alface, melão, rabanete e água (SILVA DE MELO et al., 2018). Além disso, é reconhecido pelo Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (ECDC) como agente indicador de resistência antimicrobiana de bactérias gram negativas (SUWONO et al., 2021; ROMERO-BARRIOS et al., 2020; GREGOVA e KMET 2020; OSIŃSKA et al., 2020). As estirpes de *E. coli* patogênicas, comumente chamadas de *E. coli* diarreio gênica (DEC), podem passar, por transferência horizontal de genes (HTG), um conjunto de características virulentas responsáveis por causar diarreia no hospedeiro (SUWONO et al., 2021).

Já *Salmonella* é um bacilo flagelado, gram negativo, anaeróbico facultativo, não esporulado, não encapsulado e, assim como a *E. coli*, também faz parte da família *Enterobacteriaceae* (EHUWA et al., 2021, WALDMAN et al., 2020 SILVA DE MELO et al., 2018). Apresenta duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori*, da qual a primeira apresenta importância em saúde pública e inclui mais de 2.600 sorovares, dos quais *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Heidelberg apresentam maior relevância (JOHNSON et al., 2018; COLLA et al., 2012, RITTER et al., 2012).

É uma bactéria com altas taxas de incidência no mundo todo e a infecção geralmente ocorre devido ao consumo de ovos e derivados, carne de aves, carne de bovinos e leite contaminado (DA SILVA et al., 2018). Além disso, é capaz de sobreviver em ambientes de baixa umidade (EHUWA et al., 2021).

Os principais sintomas causados pela *Salmonella* não tifóide são náuseas, êmese, dores abdominais, diarreia sanguinolenta, dores de cabeça, condições febris, mialgia e possível desidratação, principalmente em bebês e idosos (EHUWA et al., 2021). É considerado uma enterocolite autolimitante, cessando em uma semana, entretanto, em pessoas imunodeprimidas, crianças desnutridas e idosos, a doença pode evoluir para o seu modo invasivo apresentando bacteremia, meningite e infecções nas amígdalas (EHUWA et al., 2021, GILCHRIST e MACLENNAN, 2019). Caso o doente seja imunocomprometido, pode desenvolver uma febre entérica em que os sintomas são febre, anorexia, cefaleia, letargia, mialgia, constipação, entre outros (EHUWA et al., 2021).

3.3. Evolução da resistência antimicrobiana

A transferência horizontal de genes (THG) é um dos mais importantes mecanismos responsáveis pela evolução bacteriana, especialmente relacionado à resistência antimicrobiana, pelo qual, células compartilham cada vez mais variabilidade genética entre si (BRITO, 2021). Essa transferência pode ocorrer por conjugação, transdução e transformação e vesiduction, com consequente aquisição de um novo DNA para conseguir adaptação a meios estressores necessários à sobrevivência celular (RODRÍGUEZ-BELTRÁN et al., 2021 e BRITO, 2021). A THG é o meio mais rápido para as bactérias obterem genes para a sobrevivência em um ambiente estressor (LERMINIAUX et al., 2019). A THG é mais comum entre organismos mais próximos, mas pode ocorrer também com bactérias mais distantes filogeneticamente (LERMINIAUX et al., 2019).

De maneira resumida, a transformação ocorre quando uma bactéria naturalmente competente faz a captação de um DNA livre presente no ambiente externo (por lise bacteriana ou por uma secreção ativa) e, logo em seguida, há incorporação ao genoma bacteriano deste material genético por recombinação homóloga ou reconstituição e replicação de plasmídeos (GOLZ et al., 2021; LERMINIAUX et al., 2019). Existem estudos demonstrando que a presença de quinolonas em culturas de *Streptococcus pneumoniae*, aumenta as taxas de transformação e, consequentemente, a disseminação de genes de resistência (LERMINIAUX et al., 2019).

A transdução ocorre através de um bacteriófago ao empacotar um DNA em partículas virais e, ao infectar outra bactéria, esse gene pode ser eliminado ou se propagar (RODRÍGUEZ-BELTRÁN et al., 2021).

A vesiduction é um novo tipo de THG em que bactérias utilizam vesículas especiais de membrana secretada na superfície de uma célula doadora para disseminação do DNA extracromossomal para o citoplasma de outras bactérias receptoras por fusão da citomembrana, sendo um processo mais fácil de ocorrer em biofilmes de ambientes aquáticos (JIANG et al., 2022, RODRÍGUEZ-BELTRÁN et al., 2021).

Ao adquirir o gene responsável pela resistência, a bactéria pode apresentar vários mecanismos de resistência sendo os principais, aumento de genes relacionados a bombas de efluxo, produção de enzimas que são responsáveis por destruir ou modificar o fármaco e formação de biofilmes que reduzem o acesso aos fármacos (FARIA et al., 2021, PONTES et al., 2018).

3.4. Ampicilina e o gene *bla*_{TEM}

A ampicilina é um antibiótico de amplo espectro que faz parte dos β -lactâmicos e é considerado um dos fármacos da classe das penicilinas mais importantes (AYDOGDU et al., 2023 e GAWRONSKA et al., 2022). É um dos antibiótico mais utilizados em tratamentos de infecções ocasionadas por *Enterobactérias*, como a salmonelose (GAWRONSKA et al., 2022). Além disso, também é muito utilizado na produção animal na forma de subdoses como promotor de crescimento na intenção de ganho de peso (GAWRONSKA et al., 2022).

Tem como mecanismo de ação a inativação da biossíntese do peptidoglicano bacteriana por se ligar ao receptor chamado de proteínas de ligação à penicilina presente na membrana, causando, então, instabilidade da parede celular, principalmente em ambientes hipotônicos (AZEREDO, 2022 e PEECHAKARA et al., 2018). Devido a isso, irá ocorrer a lise seguido de morte celular (AZEREDO, 2021).

Assim como em todos os antibióticos, caso seja utilizado de forma indevida, pode acarretar no aparecimento de bactérias super-resistentes (GAWRONSKA et al., 2022). Em 1965 foi feito a publicação do primeiro relato sobre a codificação de β -lactamases em cepas de *Enterobacteriaceae*, uma de *Escherichia coli* e duas de *Salmonella* (TRAN-DIEN et al., 2018). A β -lactamase descoberta produzida pela *Escherichia coli* e *Salmonella* foi denominada de TEM na forma de homenagem ao primeiro paciente, Temoneria, e é codificado pelo gene *bla*_{TEM-1A} (TRAN-DIEN et al., 2018).

Já existem inúmeros relatos de presença de *Enterobacteriaceae*s em animais de produção (INCE et al., 2023, ALFIFI et al., 2022), até em alimentos (SOUBEIGA et al., 2022 e HOSSAIN et al., 2022) e que apresentam resistência à antibióticos, principalmente à ampicilina. É uma situação preocupante, pois, ao ingerir um alimento contendo bactérias resistente à antibiótico, pode ocorrer troca gênica entre a bactéria patogênica e as bactérias comensais do intestino, ocasionando, portanto, em um acúmulo de genes em humanos (SOUBEIGA et al., 2022).

3.5. Processo de conjugação e multirresistência

A conjugação é um processo em que ocorre a transferência de um elemento genético móvel (EGM), podendo ser inserção, transposons, integrons e plasmídeos, com

contato físico de uma bactéria doadora para uma bactéria receptora através de um aparelho de conjugação (VIROLLE et al., 2020, LERMINIAUX et al., 2019, GROHMANN et al., 2003). A conjugação pode ocorrer em qualquer ambiente como solo, água, esgoto, superfícies até no trato gastrointestinal (TGI) de animais e humanos, auxiliando na adaptação de cepas bacterianas. Além disso, ela é considerada o principal gerador de evolução do genoma bacteriano, conferindo vantagens como aumento da virulência e resistência aos antibióticos (VIROLLE et al., 2020; GUGLIELMINI et al., 2013).

Pesquisas demonstraram que a utilização de antibióticos pode aumentar a ocorrência do processo de conjugação, pois o fármaco atua como um indicador químico que modula a transcrição de genes para virulência, reparo e transferência de DNA (LERMINIAUX et al., 2019).

O processo da conjugação ocorre através de um contato direto de uma célula doadora (F+) com uma célula receptora (F-) que irá receber o material genético através do pili conjugativo, uma estrutura composta por diversas subunidades de proteínas denominadas pilinas dispostas em fitas helicoidais em torno de um eixo central (PRENSKY et al., 2021, GROHMANN et al., 2020, MOREIRA et al., 2013). Ao ocorrer contato entre as células doadora e receptora, ocorre fusão entre as membranas e consequentemente, estabilidade, para que ocorra a transferência do DNA plasmidial, assim, a célula receptora faz uma cópia desse material genético, e, caso receba junto o gene do pili ou já tenha o pili, também será considerado F+ (MOREIRA et al., 2013).

Tem sido relatada a facilidade em ocorrer conjugação entre bactérias de espécies diferentes (VAN et al., 2007). Um estudo com *Escherichia coli* e *Salmonella* encontrados em alimentos de origem animal no Vietnã, demonstrou que esses isolados apresentaram plasmídeos conjugativos de grande peso molecular que determinavam resistência a antibióticos e, bactérias doadoras, foram capazes de propagar estes genes a bactérias receptoras (VAN et al., 2007). A conjugação entre *Nocardia* e *Arthrobacter spp.* também já foi relatada (ÁLVAREZ- NARVÁREZ et al., 2020). E segundo LERMINIAUX et al. (2019), esse processo pode ocorrer tanto inter quanto intraespécies em *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e *Acinetobacter*.

3.6. Nanotecnologia e o controle de patógenos

Bactérias resistentes a antibióticos são um problema cada vez mais preocupante a

nível global, principalmente pelo fato de existir uma baixa produção de novos antibióticos (KHAMENEH et al., 2016). Assim, as bactérias acabam desenvolvendo rapidamente resistência ao novo fármaco, tornando necessário o desenvolvimento de novas estratégias a fim de combater ou diminuir o avanço das superbactérias (KHAMENEH et al., 2016).

Uma das alternativas atuais para controle da disseminação da resistência aos antimicrobianos inclui a utilização de nanoestruturas capazes de melhorar vários processos, como o aumento da superfície de contato, produção facilitada e baixa taxa de degradação, garantindo maior viabilidade do produto (MISHRA et al., 2018, AMOABEDINY et al., 2017).

Existem vários tipos de nanopartículas tanto na sua composição, quanto na sua estrutura. Um exemplo de nanopartículas são as nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) que são partículas coloidais, nanométricas, lipofílicas e sólidas à temperatura ambiente e corporal, composto geralmente por triglicerídeos, ceras ou manteigas, entre outros e, estabilizados por uma solução tensoativa (LIMA et al., 2021; GESZKE-MORITZ et al., 2016).

A evolução das NLS se deu com as NLC (carreadores lipídicos nanoestruturados), apresentando uma matriz lipídica interna, que consiste na mistura entre lipídio sólido e líquido, e tem como função o transporte de uma substância hidrofóbica de forma eficiente, apresentando bastante estabilidade por muito tempo a temperatura ambiente (RIBEIRO et al., 2021, RIBEIRO et al. 2016). O NLC tem vantagem sobre o NLS por ter maior estabilidade físico-química, melhor aprisionamento do conteúdo interno, liberação controlada do conteúdo e natureza não-tóxica (FAHMY et al., 2020, MISHRA et al., 2018, RIBEIRO et al., 2016).

Óleos essenciais consistem em líquidos de alta concentração que se volatilizam facilmente e são produtos do metabolismo secundário de plantas, apresentando diversos atributos, sendo um deles, atividade antimicrobiana (XIAO et al., 2020; CONTRUCCI et al., 2019). Pelo fato de os óleos serem produtos multicompetentes comparados ao princípio ativo de forma individual, as chances das bactérias apresentarem resistência a eles é menor (CONTRUCCI et al., 2019). Portanto, é uma alternativa interessante para se acoplar a carreadores lipídicos nanoestruturados e também por ser uma material biodegradável e natural (UCHIDA et al., 2021) amplia sua utilização para o conceito de sustentabilidade. Além disso, os óleos essenciais tem o reconhecimento da Food and Drug Administration como substâncias seguras (YAZGAN, 2020). Portanto, pode ser utilizado sem

preocupações na indústria alimentícia, tanto na forma de higienização de máquinas e equipamentos que entram em contato com o alimento, assim como diretamente no alimento produzido na forma de aditivo (YAZGAN, 2020). Existem algumas desvantagens em utilizar o óleo essencial na indústria, como alta volatilidade, odor forte, baixa solubilidade em água e baixa capacidade limitada em interagir diretamente com microorganismos, entretanto, ao ser encapsulado, pode resolver maioria dessas limitações (MOGHIMI et al., 2016).

Estudo anterior comprovou que, em indústrias alimentícias, o carregamento das NLC contendo óleos essenciais foram bem-sucedidas, pois apresentaram maior proteção e são conservantes naturais de alimentos. Além disso, devido a sua característica nanométrica e lipofílica é facilmente difundido em membranas biológicas o que facilita as atividades antimicrobianas dos óleos essenciais (OEs) (UCHIDA et al., 2021).

Estudo comparativo com utilização de emulsão de citral e de NLC com o mesmo óleo demonstrou que os carreadores lipídicos nanoestruturados apresentaram um CIM e CBM menores em *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, e portanto mais eficiente que a emulsão (MOKARIZADEH et al., 2017).

Por ser um assunto recente, ainda não existem estudos sobre NCL como forma de controlar processos de recombinação gênica. Por isso, a presente proposta pretende avaliar esse potencial efeito inibidor, por meio da utilização de NLC, aliado à manteiga de karité na forma de lipídio sólido e o OE de sálvia como lipídio líquido.

3.7. Óleo essencial de sálvia

O óleo de sálvia advém da folha *Salvia officinalis* e é uma erva medicinal utilizada para o tratamento de problemas digestivos e circulatórios, bronquite, tosse, asma, angina, inflamação da boca e garganta, depressão, sudorese excessiva, doenças de pele, além de apresentar poder antimicrobiano (MENDES et al., 2020).

A composição básica dos compostos biologicamente ativos da sálvia consiste em monoterpenos (α e β -tujona, 1,8-cineol e cânfora), diterpenos (ácido carnósico, carnosol, rosmadial e manool), triterpenos (ácidos oleanólico e ursólico) e componentes fenólicos, dividido em dois grupos ácidos fenólicos (ácidos cafeico, vanílico, ferúlico e rosmarínico) e flavonóides (luteolina, apigenina e quercetina), entretanto, a sua composição depende muito do método de extração utilizado (JAKOVLJEVIĆ et al., 2019).

Além disso, quimiotipos de plantas individuais, localização geográfica, data de colheita e frequência de colheita, condições de cultivo, déficit hídrico, proporções de partes da planta e tipo de secagem, bem como tempo de hidrodestilação, também interferem na constituição do óleo, entretanto, apresenta sempre um marcador principal sendo de dois a três principais componentes de cada espécie (JAKOVLJEVIĆ et al., 2019).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Origem do nanocomposto e reativação das cepas

Foi testado um NLC a base de óleo essencial de sálvia, nanocarreado em manteiga de karité previamente produzido, nanoestruturados e testado em cepas de *Campylobacter jejuni* (RIBEIRO et al., 2021, RIBEIRO, et al., 2016). O composto foi produzido e doado pelo Laboratório de Nanobiotecnologia na Universidade Federal de Uberlândia.

O estudo foi realizado no Laboratório de Epidemiologia Molecular da Universidade Federal de Uberlândia (LEPIMOL-UFU). Para o processo de conjugação, a cepa doadora utilizada nesse experimento foi *Salmonella enterica* sorovar Heidelberg que apresenta o gene *bla_{TEM} wild type* plasmidial e pili sexual, sendo resistente a ampicilina, e *E. coli* J53, como receptora e resistente a azida sódica (AzR).

As linhagens foram reativadas em caldo de pré-enriquecimento BHI (KASVI®), a 37 °C por 24 horas $\pm$ 4 horas. Depois realizado o repique em ágar XLD, para *Salmonella*, e EMB (*Biokar diagnostics*®) para *E. coli*, incubadas nas mesmas condições e posteriormente semeadas em ágar TSA (*Biokar diagnostics*®) e incubadas sob as mesmas condições (CLSI, 2018).

4.2. Concentração Inibitória Mínima (CIM)

As concentrações inibitórias mínimas (CIM) do nanocarreadores lipídicos contendo OE (óleo essencial) de sálvia foram determinadas contra as formas livres das cepas testadas no estudo, por meio do método de microdiluição, produzidos separadamente, em triplicata e em três momentos distintos (CLSI, 2021). O teste foi feito para determinação de doses inferiores à CIM para o teste no controle do processo de conjugação. As suspensões bacterianas foram ajustadas para a turvação correspondente a 0,5 na escala de *MacFarland*. Em seguida, diferentes concentrações das formulações foram adicionadas em placas de 96 poços para um volume final de 200 μ L com o caldo. Por fim, as placas foram incubadas a 37 °C, por 24h. Após este período, os valores de CIM foram determinados com base na menor concentração das formulações que não impediram o crescimento da *Salmonella* e da *E. coli* comparado com o grupo controle. Após esta avaliação, as concentrações menores que a CIM foram utilizadas nos ensaios de inibição da conjugação.

Todos os ensaios foram realizados em três réplicas e três repetições, utilizando controles negativos formados pelo meio de cultura sem adição de bactérias.

4.3. Conjugação bacteriana

A frequência de transferência da resistência aos β -lactâmicos foi investigada por experimento de conjugação na forma livre de maneira comparativa entre três métodos distintos de conjugação com e sem *chicken Juice*, para aquisição do gene *bla*_{TEM}.

No ensaio de conjugação, as cepas de *Salmonella* (doadora) e *Escherichia coli* (receptora), estocadas no laboratório em ultrafreezer, foram descongeladas à temperatura ambiente, reativadas em BHI e conjugadas em meio líquido por 3 horas sob agitação (**método 1**), em meio sólido *overnight* (**método 2**) e em meio líquido *overnight* sem agitação (**método 3**).

Foram repicadas cinco colônias isoladas de *Salmonella* e *Escherichia coli* das placas de TSA e inoculadas separadamente em falcons contendo 3 mL de caldo LB (NEOGEN®) para serem incubadas logo em seguida por 3 horas a 37 °C com agitação orbital a 60 rpm e depois foi medida a D.O., em leitora de microplacas, na intenção de se obter um valor entre 0,4-0,5. O **método 1** ocorreu com a adição de 200 μ L da cepa doadora (D) (*Salmonella*) e 800 μ L receptora (R) (*E. coli*) obtendo uma co-cultura (1:4) de 1 mL que logo em seguida foi incubada por 3 horas a 37 °C com agitação orbital a 20 rpm. O tradicional (conjugação sem *chicken Juice*), compreende a adição de 200 μ L da cepa doadora (D) (*Salmonella*) e 800 μ L receptora (R) (*E. coli*) obtendo uma co-cultura (1:4) de 1 mL. Já, ao utilizar o *Chicken Juice* (CJ) na conjugação, foi adicionado 720 μ L de receptora, 180 μ L de doadora e 50 μ L de CJ.

Após o período de incubação, a co-cultura da conjugação 1, foi pipetada no volume de 100 μ L em salina 0,9% seguido da realização de diluição seriada e plaqueamento de 100 μ L em ágar *MacConkey* (*Biokar diagnostics*®) com a presença de dois inibidores (antibiótico ampicilina e bacteriostático azida sódica).

Para o **método 2**, foi colocado 200 μ L da co-cultura do método 1 sem CJ (tradicional) e em outra com CJ sobre membrana em éster de celulose de 0,22 μ m (MILLIPORE®) em um dos poços da placa de cultivo de células de 6 poços (KASVI®) contendo ágar LB *Lenox* (*Biolog*®) e incubado a 37 °C *overnight*. Depois, a membrana foi emergida em 20 mL de salina estéril 0,9%, raspada e pipetada 100 μ L para obtenção de contagem de transconjugantes nas diluições 10^{-1} a 10^{-8} .

Para o **método 3**, foi extraído 400 μ L do co-cultivo da conjugação 1 sem CJ

(tradicional) adicionado em um falcon contendo 1,6 mL de caldo LB (NEOGEN®) e em outra colocou-se 400 µL do co-cultivo da conjugação 1 com *CJ* (onde se adicionou novamente 100µL de *CJ*) em 1,5mL de LB, ambos foram incubados a 37 °C *overnight* sem agitação, e no dia seguinte foi feita a diluição seriada em solução salina 0,9% (10^{-1} a 10^{-8}).

A seleção das transconjugantes foi determinada pelo crescimento de colônias nas placas, já que somente as linhagens recombinantes de *E. coli* J53 AzR apresentam resistência aos dois antimicrobianos adicionados. Para ser feito a seleção, foram utilizadas placas de *MacConkey* contendo azida sódica a 160 µg/mL e ampicilina (Vetnil®) 200.000 µg/mL, onde somente a receptora transconjugada poderia se expressar, devido à resistência adquirida da doadora e por ter resistência prévia a azida sódica. As placas com doadora (contendo apenas *MacConkey* com ampicilina) e receptora (contendo apenas *MacConkey* com azida sódica) foram incubadas *overnight* a 37 °C seguidas de contagem de colônias em prazo máximo de 24 horas e as placas contendo transconjugantes foram incubadas por um período de 48 horas seguidas de contagem para realização da frequência de conjugação.

A frequência da conjugação (FC) foi calculada para cada suplemento, com e sem tratamento. O cálculo utilizou a média do número de colônias (entre 25 e 250) encontrada nas placas de transconjugantes de cada repetição, dividido pela média do número de colônias (entre 25 - 250) das receptoras de cada repetição:

4.4. Inibição da conjugação pelo nanocarreador lipídico (NLC) composto por OE de sálvia

As formulações de carreador lipídico nanoestruturado (NLC) utilizadas no presente estudo foram preparadas pelo método de emulsificação-ultrasonicação (RIBEIRO et al., 2016), cuja estabilidade físico-química já foi descrita (RIBEIRO et al., 2021).

Depois da produção e purificação prévia, a inclusão dos NLC nos testes de conjugação foi realizada no momento da inoculação dos 100µL das culturas mistas nos ensaios de conjugação em bactérias livres. As concentrações a serem testadas pelos agentes, será de 0,390625 mg/mL, confirmada após determinação da CIM. Após o processo de conjugação, a taxa de transconjugantes foi determinada pelo cálculo de FCR e comparada aos valores obtidos nos ensaios sem NLC.

4.5. Amplificação do gene *bla*_{TEM} nos transconjugantes

O ensaio genotípico foi feito em pelo três colônias de cada método de conjugação testada e com e sem a presença de *Chicken Juice* para determinar a presença do gene *bla*_{TEM}. A extração do DNA foi realizada com o kit *Wizard Genomic DNA Purification* (Promega®) conforme instruções do fabricante. A reação PCR foi realizada em um volume final de 25 µL, utilizando o kit *master mix Promega*, nas condições de amplificação e primers descritos na Tabela 1. A amplificação foi realizada em termociclador (*Eppendorf*®), 30 ciclos de amplificação: desnaturação a 94°C durante 45 s, anelamento a 50°C durante 45 s, extensão a 72°C durante 90 s, com extensão final a 72°C durante 10 min.

Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, utilizando o tampão de funcionamento TBE 0,5x (Invitrogen®) e, como padrão de peso molecular, o marcador de 100 bp (Invitrogen®).

Tabela 1. *Primers* e condições utilizados para identificar os plasmídeos de resistência a beta-lactâmicos

Gene	Sequência 5'→ 3'	Peso molecular (pb)	Condições PCR (°C)	DNA (ng)	Referência
<i>bla</i> _{TEM}	CAGCGGTAAGATCCTTG AGA ACTCCCCGTCGTGTAGA TAA	643	95°C – 5 min; 50°C – 45 seg; 72°C 90seg; 72°C 10min	10	Ahmed et al., 2007

4.6. Análise estatística

Os resultados dos testes foram tabulados e submetidos à estatística paramétrica por meio da aplicação de ANOVA para testes com três ou mais variáveis e Teste T para duas variáveis. Todas as avaliações foram feitas usando o programa *Graph Pad Prism* 8.0.

5. RESULTADOS

Em todas as repetições não identificamos diferença estatística entre as contagens obtidas para doadora, receptora e ambos os transconjugantes provenientes dos métodos tradicional e com *chicken juice*, tanto no controle quanto no teste com a nanopartícula ($p > 0,05$ – one way ANOVA), garantindo a manutenção quantitativa em todas as repetições. Para doadora e receptora esses valores não oscilaram, com contagem média de 7,7 log UFC e 7,6 log UFC, respectivamente.

A análise comparativa entre os métodos identificou que a quantidade de transconjugantes não variou entre as metodologias 1 e 3 (média de 6,0 a 6,5 log UFC), porém o método 2 ($p = 0,0001$) foi o que menos apresentou transconjugantes (média de 4,2 a 5,0 log UFC), tanto no tradicional quanto na presença do *chicken juice*. A utilização de *chicken juice* aumentou significativamente a quantidade de transconjugantes apenas no método 1 ($p = 0,0013$), e esse aumento foi equivalente a 0,5 log UFC, ou seja, quase três vezes mais o valor do tradicional. Esse valor é condizente à frequência de conjugação da receptora (FCR) (FCR: Transconjugantes/Receptora) identificada e igual a 2,2% e 6,2%, respectivamente para o teste sem e com *chicken juice*, conforme demonstrado na Figura 1.

Vale ressaltar que o método de conjugação 1 foi considerado o mais efetivo na conjugação bacteriana e a influência do *chicken juice* foi significativa para amplificar o processo, tanto na análise estatística ($p = 0,0013$) quanto na FCR. Por isso, essa foi a metodologia de escolha para avaliar o efeito do nanocomposto no controle do processo de conjugação.

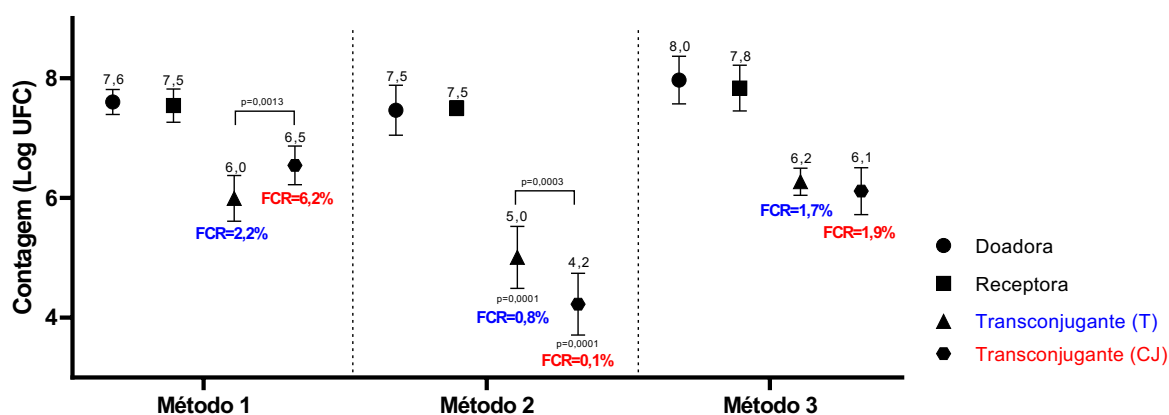


Figura 1: Comparação das contagens e frequências de conjugação obtidas nas três metodologias testadas com e sem *chicken juice*. $p = 0,0001$, diferença estatística pela one way ANOVA na comparação entre métodos. T: tradicional; CJ: *chicken juice*. $p = 0,0003$ e $0,0013$, diferença estatística pelo Teste T na comparação com e sem *chicken juice*. FCR: frequência de conjugação da receptora em percentual.

A comparação referente ao uso do nanocomposto de sálvia na conjugação mostrou eficácia no controle do processo de conjugação uma vez que houve redução na FCR de 2,2 para 0,028% no teste tradicional e de 6,2 para 0,098% na conjugação utilizando *chicken juice*. Os valores encontrados mostraram diferenças estatísticas nas contagens absolutas de 6,0 para 4,5 log UFC e de 6,5 para 5,0 log UFC, equivalentes a uma redução de 79,6 e 67,6 vezes do processo de conjugação, respectivamente, no método tradicional e com *chicken juice* (Figura 2).

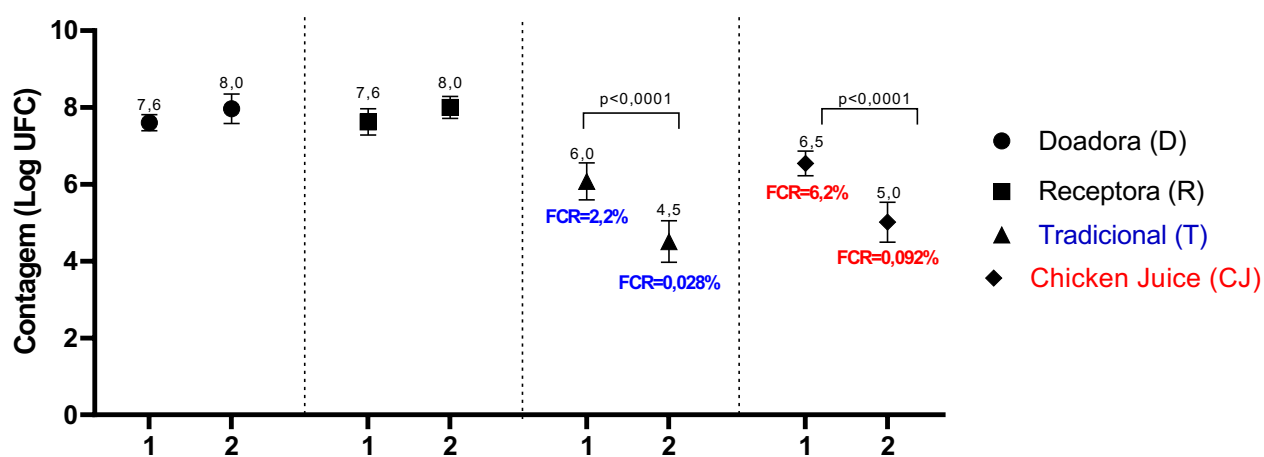


Figura 2: Comparação das contagens e frequências de conjugação obtidas no método 1 não tratado (1) e no teste com o nanocomposto de sálvia (2). T: Transconjugante; CJ: *chicken juice*. $p < 0,0001$, diferença estatística pelo Teste T. FCR: frequência de conjugação da receptora em percentual.

Os testes anteriores para identificação da melhor concentração do nanocomposto (Sálvia) a ser testada permitiram identificar que o valor de 0,390625 mg/mL foi a mais efetiva para o teste de conjugação, uma vez que não houve diferença significativa em *E. coli* ($p = 0,898$) tampouco em *Salmonella* Heidelberg ($p = 0,08$) na redução da contagem bacteriana, de maneira a não interferir nos resultados de transconjugantes. Nessa concentração tivemos uma contagem de 0,84 log UFC no controle e no teste com o nanocomposto em *E. Coli*. Já para *Salmonella*, 7,24 log UFC no controle e 6,51 log UFC no teste com o nanocomposto em *Salmonella*.

As análises moleculares confirmaram a presença do gene *bla*_{TEM} em todas as colônias submetidas à PCR, conforme exemplificado na figura 3. Esse resultado confirma genotipicamente a conjugação já verificada no método fenotípico.

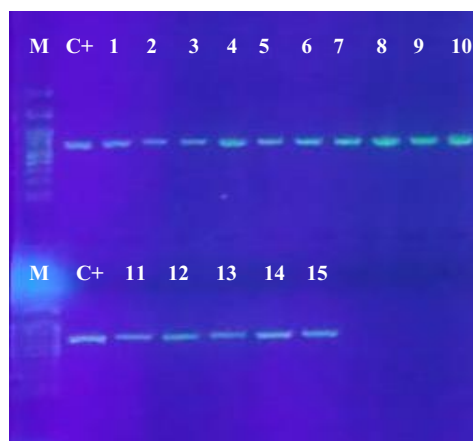


Figura 3: Gel de eletroforese confirmando a presença do gene *bla*_{TEM} no DNA dos transconjugantes de *E. coli* identificados. M: marcador de peso molecular 100pb; C+: controle positivo da cepa de *S. Heidelberg*; 1 a 15: colônias de *E. coli* transconjugantes positivas para o gene *bla*_{TEM}.

6. DISCUSSÃO

Foi identificado uma menor frequência de conjugação na metodologia em que foi utilizado um meio sólido (método 2) em comparação com as outras duas metodologias que foram utilizados meios líquidos. Uma hipótese para isso ter acontecido, seriam fatores extrínsecos em que, meio líquidos bem homogeneizados, a transmissão do plasmídeo ocorre por todas as células bacterianas, já em meios sólidos, essa transferência ocorre em escalas espaciais e na forma de microcolônias, ficando mais restrito em certo local (ZHONG et al., 2002). Portanto, para que seja possível uma alta taxa de transferência de plasmídeos em escala espacial, depende exclusivamente do tempo de contato e distribuição inicial das células, ou seja, a transferência do gene ocorre em maior extensão em situações que apresentam, inicialmente, maior densidade de bactérias (ZHONG et al., 2002).

Foi demonstrado que a presença do *chicken juice* (CJ) também aumenta a taxa de transferência plasmidial. O CJ é muito utilizado em estudos como forma de mimetizar nutrientes em escala industrial e é uma importante fonte de crescimento bacteriano por ser uma matriz complexa e rica em proteínas, lipídeos, carboidratos e açúcares (SARJIT et al., 2021, LI et al. 2017, BROWN et al., 2014).

Além disso, Brown et al. (2014) identificaram que os sucos de carne aumentam a sobrevivência e a multiplicação de bactérias e formação de biofilmes, devido a presença de moléculas de *quórum sensing* (QS), mesmo quando utilizados sucos de carne esterilizados, não encontrados em amostras de carne (LI et al. 2017). QS desempenha o papel de comunicação célula-célula entre e intra espécies e tem como função regular genes em resposta a densidade populacional do meio através de produção, liberação e detecção de moléculas de sinais chamadas de autoindutores (AI), afim de promover sua adaptação e garantir sua sobrevivência (LU et al., 2017, GONZALES et al. 2006). Estes autoindutores são responsáveis pelo controle de formação de biofilmes, produção de toxinas, fatores de virulências e motilidade e, até, na facilitação da transferência horizontal de genes (GONZALES et al., 2006).

De acordo com os resultados, houve uma redução de 79,6 vezes na FCR sem CJ e 67,6 vezes, ao utilizar o NCL de sálvia na transferência horizontal de genes. Já foi constatado por estudos anteriores, que o óleo essencial de sálvia tem inúmeras propriedades medicinais, sendo uma delas, antibacterianas (MENDES et al., 2020).

Existem alguns estudos focados em impedir exclusivamente a conjugação bacteriana, sendo esses compostos denominados de inibidores de conjugação (COINs) (GETINO et al., 2015, FERNANDEZ-LOPEZ et al., 2005). Foram utilizados bisfosfonatos (LUJAN et al., 2007), nitrofuranos (BRIAND & LAPORTE., 1985), clorpromazina (CONTER et al., 2002) entre outros, entretanto, nenhum desses funcionam como COINs e sim como inibidores inespecíficos, por não ter um alvo específico na maquinaria conjugativa, portanto é considerado um falso positivo (FERNANDEZ-LOPEZ et al., 2005). Até então, os COINs mais bem aceitos e que apresentam melhores resultados são os chamados ácidos graxos insaturados (uFAs), responsáveis por inibir os plasmídeos IncW e IncF sem afetar o crescimento bacteriano (FERNANDEZ-LOPEZ et al., 2005). Mas também foi visto que as uFAs agiram somente nos plasmídeos F e R388, já os plasmídeos pKM101, RK6 e RP4, não sofreram inibição (FERNANDEZ-LOPEZ et al., 2005). Os uFAs com melhores resultados até agora e responsáveis por inibir a conjugação são ácido desidrocrepínico (DHCA), ácido 2-hexadecínico sintético (2-HDA), ácidos graxos 2-alcinólicos (2-AFAs) e ácidos tanzawaic A e B (CABEZON et al., 2017).

O óleo essencial de sálvia utilizado no presente estudo, apresenta os seguintes compostos biologicamente ativos: monoterpenos (α e β -tujona, 1,8-cineol e cânfora), diterpenos (ácido carnósico, carnosol, rosmadial e manool), triterpenos (ácidos oleanólico e ursólico) e componentes fenólicos, dividido em dois grupos ácidos fenólicos (ácidos cafeico, vanílico,

ferúlico e rosmarínico) e flavonóides (luteolina, apigenina e quercetina) (JAKOVLJEVIĆ et al., 2019). De acordo com Oyedemi et al., (2016), foi relatado que plantas ricas em componentes fenólicos, apresentam capacidade de modificar a resistência bacteriana.

Como citado, o óleo essencial de sálvia apresenta poder antibacteriano, sendo o ácido ursólico o principal agente bactericida, entretanto, não apresenta os chamados uFAs na sua composição. Portanto, mesmo com a diminuição significativa da frequência conjugativa, ainda não é possível ainda designar o NLC como um possível COINs, contudo também não pode ser descartado por ser um campo de pesquisa ainda muito novo. Desse modo, é de suma importância o desenvolvimento de novos estudos ainda mais aprofundados, principalmente utilizando o ensaio de conjugação de alto rendimento (HTC) baseado em luminescência, com o intuito de evitar falsos positivos, e mais isolamentos de moléculas de plantas medicinais para descobrir novos inibidores (CABEZON et al., 2017). Também é necessário entender melhor os constituintes do *CJ* e a sua atuação na célula para desenvolver de forma mais eficaz formas de mitigar o fortalecimento bacteriano.

7. CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que o método de conjugação 1 com menor tempo de exposição e em meio líquido, é o mais efetivo na obtenção de transconjugantes. Além disso, observamos que o uso do nanocomposto de sálvia foi promissor como agente redutor da conjugação e teve uma ação ligeiramente inferior quando foram simuladas as condições do ambiente industrial avícola. Entretanto, como o *chicken juice* aumenta a taxa de transferência gênica de forma expressiva (0,5 log/UFC), o efeito do nanocarreador na conjugação, teve um resultado animador. São necessários mais estudos sobre a atuação de moléculas isoladas de plantas medicinais e testes remanescentes como o ensaio de conjugação de alto rendimento (HTC) baseado em luminescência para determinar se de fato trata-se de um COIN.

7 REFERÊNCIAS

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. 2022. Disponível em: <<https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf>>. Acesso em: 03 mai. 2022.

ABRAFRIGO. Exportação Brasileira de carnes bovinas e derivados. ACWAgro. Dez. 2021. Disponível em: <https://www.abrafrigo.com.br/wp-content/uploads/2021/12/ABRAFRIGO-Exporta%C3%A7%C3%A3o-Carne-Bovina-Jan_2020-a-Dez_2021.pdf> Acesso em: 05 mai. 2022.

ABRI, R., JAVADI, A., ASGHARI, R., RAZAVILAR, V., SALEHI, T., SAFAEEYAN, F., REZAEI, M. Surveillance for enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* isolates from animal source foods in Northwest Iran. **Indian Journal of Medical Research**. v. 150, n. 1, p. 87-91, jul. 2019. Disponível em: <https://journals.lww.com/ijmr/Fulltext/2019/50010/Surveillance_for_enterotoxigenic
[12.aspx](https://journals.lww.com/ijmr/Fulltext/2019/50010/Surveillance_for_enterotoxigenic)> Acesso em: 26 jun 2022.

AHMED, A.M.; MOTOI, Y.; SATO, M.; MARUYAMA, A.; WATANABE, H.; FUKUMOTO, Y. et al. Zoo animals as reservoirs of gram-negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. **Appl Environ Microbiol**. v. 73, n.20, p. 6686– 6690, Ago. 2007. Disponível em:<<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.01054-07>>. Acesso em: 06 out. 2021

AKAHANE, K., SAKAI, D., KOMANO, T., Analysis of the *pilU* gene for the prepilin peptidase involved in the biogenesis of type IV pili encoded by plasmid R64. **Mol Genet Genomics**. v. 273, p. 350-359, Abr. 2005. Disponível em:<<https://link.springer.com/article/10.1007/s00438-005-1143-8#citeas>>. Acesso em: 27 Out. 2022.

ALANIS, Afonso J. Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era?. **Archives of Medical Research**, Cidade do México, v. 36, ed. 6, dez. 2005. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0188440905002730?via%3Dihub>>

Acesso em: 06 out. 2021

ALFIFI A, Christensen JP, HOUNMANOU YMG, SANDBERG M and Dalsgaard A. Characterization of Escherichia coli and other bacteria isolated from condemned broilers at a Danish abattoir. *Front. Microbiol.* v. 13, Nov. 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.1020586/full>>. Acesso em: 12 Jan. 2023

AMOABEDINY, Ghasem, HAGHIRALSADAT, Fateme, NADERINEZHAD, Samira, HELDER, Marco N., AKHOUNDI KHARANAGHI, Elham, MOHAMMADNEJAD AROUGH, Javad, ZANDIEH-DOULABI, Behrouz. Overview of preparation methods of polymeric and lipid-based (niosome, solid lipid, liposome) nanoparticles: A comprehensive review. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials.** v. 67, n. 6, p. 383-400, Abr. 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00914037.2017.1332623?scroll=top&needAccess=true>> Acesso em: 06 out. 2021

ALVAREZ-NAVAREZ, S., GIGUERE, S., BERGHAUS, L. J., DAILEY, C., VAZQUEZ-BOLAND, J. A. Horizontal spread of rhodococcus equi macrolide resistance plasmid pRErm46 across environmental actinobacteria. **Applied and Environmental Microbiology.** v. 86, n. 9, abr. 2020. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.00108-20>>. Acesso em: 26 jun 2022

ALDOSARY et al., Antioxidant and antimicrobial activities of Thymus vulgaris essential oil contained and synthesis thymus (Vulgaris) silver nanoparticles. **Brazilian Journal of Biology.** v. 83, Dammam, Set. 2021. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjb/a/FP8RPFGPmBYKcdv9hwtJHJM/>>. Acesso em: 05 mai. 2022.

AMARAL e ASSI. A importância da inspeção e fiscalização frente à segurança dos produtos de origem animal. **Higiene alimentar**, São Paulo, Fev. 2021. Disponível em: <<https://higienealimentar.com.br/a-importancia-da-inspecao-e-fiscalizacao-frente-a-seguranca-dos-produtos-de-origem-animal/>>. Acesso em: 5 mai. 2022.

AMARAL, S. M. B., ALMEIDA, A. P. F. de, SILVA, F. S. da, SILVA, Y. Y. V., & DAMACENO, M. N. (2021). PANORAMA DOS SURTOS DE DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS NO BRASIL NO PERÍODO DE 2009 A 2019. *RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar* - ISSN 2675-6218, 2(11), e211935, Limoeiro do Norte, Dez. 2021. Disponível em: <<https://recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/935/801>>. Acesso em: 5 mai. 2022

ARUTYUNOV, Denis, FROST, Laura S., F conjugation: Back to the beginning. **JOUR.** v. 70, p. 18-32, Jul. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147619X13000395?via%3Dihub>>. Acesso em: 28 Out. 2022.

AZEREDO, Flaubertt Santana de. AMPICILINA+SULBACTAN. Secretária de Saúde do Distrito Federal. Mai. 2021. Disponível em: <<https://www.saude.df.gov.br/medicamentos-ftd-a>>. Acesso em: 12 Jan. 2023

BRASIL, Segurança dos Alimentos, responsabilidade de todos: Dia Mundial da Segurança dos Alimentos. **BVS.** 2021. Disponível em: <<https://bvsmms.saude.gov.br/07-6-seguranca-dos-alimentos-responsabilidade-de-todos-dia-mundial-da-seguranca-dos-alimentos/>>. Acesso em: 03 mai. 2022.

BRASIL, Distribuição temporal dos surtos notificados de doenças transmitidas por alimentos – Brasil, 2007-2018. **SVS.** v. 51, n. 32. ago. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/arquivos/informe-sobre-surtos-notificados-de-doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos-2013-brasil20162019.pdf/view>>. Acesso em: 07 mai 2022.

BRIAND, Michel. Y, LAPORTE, J.M. Inhibition of Conjugal Transfer of R Plasmids by Nitrofurans. **Microbiology.** v. 131, n. 9, p. 2281-2284. Set. 1985. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-131-9-2281>>. Acesso em: 29 Out. 2022.

BRITO, Ilana Lauren. Examining horizontal gene transfer in microbial communities. **Nature Reviews Microbiology**. v. 19, n. 7, p. 442-453, Abr. 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41579-021-00534-7>>. Acesso em: 14 Fev. 2022.

BROWN, L. Helen, REUTER, Mark, SALT, J. Louise, CROSS, L. Kathryn, BETTS, P. Roy, VLIET, H. M. V. Arnoud, GRIFFITHS, M. W. Chicken Juice Enhances Surface Attachment and Biofilm Formation of *Campylobacter jejuni*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 80, p. 7053-7060, out. 2014. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/AEM.02614-14>> Acesso em: 06 out. 2021

CABEZÓN, Elena, DE LA CRUZ, Fernando, ARECHAGA, Ignacio. Conjugation Inhibitors and Their Potential Use to Prevent Dissemination of Antibiotic Resistance Genes in Bacteria. **Frontiers in Microbiology**.v. 8, Nov. 2017. Disponível em: <<https://www.readcube.com/articles/10.3389/fmicb.2017.02329>> Acesso em: 29 Out. 2022

CAVALHEIRO et al., Food defense e publicly available specification 96/2017. **Segurança Alimentar e Nutricional**. v. 28, p. 1-10, abr. 2021. Disponível em: <<https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8661489/26488>> Acesso em: 03 mai. 2022.

CHRISTIE, Peter J. Type IV secretion: the *Agrobacterium* VirB/D4 and related conjugation systems. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**. v. 1694, p. 219-234. Nov. 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488904000850>> Acesso em: 28 Out. 2022

CLARKE, Margaret, MADDERA, Lucinda, HARRIS, Robin L., SILVERMAN, Philip M. F- pili dynamics by live-cell imaging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 105, n. 46, p. 17978-17981. Nov. 2008. Disponível em: <<https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0806786105>>. Acesso em: 29 Out. 2022

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2018). Padrões de performance para a susceptibilidade antimicrobiana testada: 28º suplemento informativo. M100Ed28E. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (2018).

CONTRUCCI, B. A., SILVA, R., JUNIOR, R. A., KOZUSNY-ANDREANI, D. I. Efeito de Óleos Essenciais Sobre Bactérias Gram-Negativas Isoladas de Alimentos. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**. v. 23, n. 3, p. 180-184. Disponível em: <<https://ensaioseciencia.pgsskroton.com.br/article/view/7050>>. Acesso em: 26 jun 2022

CONTER, Annie STURNY, Rachel, GUTIERREZ, Claude, CAM, Kaymeuang. The RcsCB His-Asp Phosphorelay System Is Essential To Overcome Chlorpromazine-Induced Stress in *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**. v. 184, n. 10, p. 2850-2853. Mai. 2002. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JB.184.10.2850-2853.2002>>. Acesso em: 30 Out. 2022

CUNHA, G., CONTINI, M. E., RODRIGUES, F., DIAS, T., GOMES, R. C. , LEITE DE MORAES, A. E. Cadeia produtiva da carne bovina: contexto e desafios futuros. **EMBRAPA**. Campo Grande, Jul. 2021. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1132914/1/DOC-291-Final-em-Alta.pdf>>. Acesso em: 04 mai. 2022.

DA CUNHA, D. T., DE OLIVEIRA, A. B. A., SACCOL, A. L. F., TONDO, E. C., SILVA, E. A., GINANI, V. C., MONTESANO, F. T., DE CASTRO, A. K. F., STEDEFELDT, E. Food safety of food services within the destinations of the 2014 FIFA World Cup in Brazil: Development and reliability assessment of the official evaluation instrument. **Food Research International**. v. 57, p 95-103 Essex, Mar. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996914000271?casa_token=sNtKWPyeXA0AAAAA:URauKdMNLzdg3X9_liV6Tz99aNs_guShlm3sp0qRBB_J7Z3alKg0zU3oqxqy_K7RizEMb_Z7Wo>. Acesso em: 04 mai. 2022.

DE ALMEIDA, Luciana, WALUS, Cláudia, BITTENCOURT, J. V. M., PICININ, C. T. FREQUÊNCIA DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM FRIGORÍFICO. **Revista**

Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. v. 11, n. 1, jun. 2017. Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/5162>> Acesso em: 03 mai. 2022.

DONNENBERG, M. Infections caused by Escherichia coli and other gram-negative enteric bacilli. **DECKER INTELLECTUAL PROPERTIES INC.** p. 1-10, Ontário, 2010.

Disponível em:

<https://www.medicinanet.com.br/conteudos/acpmedicine/4663/infecoes_causadas_por_escherichia_coli_e_outros_bacilos_entericos_gram_negativos_%E2%80%93_michael_s_donne.htm> Acesso em: 26 jun 2022.

EHUWA, O., JAISWAL, A. K., JAISWAL, S. Salmonella, Food Safety and Food Handling Practices. **Foods.** v. 10, n. 5, abr. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/5/907/htm>>. Acesso em: 26 jun 2022.

FAHMY, U. A., AHMED, L. A., AWAN, Z. A., ALQARNI, H. M., ALHAKAMY, N. A. Optimization of Thymoquinone-Loaded Coconut Oil Nanostructured Lipid Carriers for the Management of Ethanol-Induced Ulcer. **AAPS PharmSciTech.** v. 21, n. 5, p. 1-10, jul. 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1208/s12249-020-01693-1>>. Acesso em: 06 out. 2021

FERNANDEZ-LOPEZ, Raul, MACHÓN, Cristina, LONGSHAW, Christopher M., MARTIN, Steve, Soren MOLIN, Soren, ZECHER, Ellen L., ESPINOSA, Manuel, LANKA, Erich, DE LA CRUZ, Fernando. Unsaturated fatty acids are inhibitors of bacterial conjugation. **Microbiology.** v. 151, Nov. 2005. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.28216-0>>. Acesso em: 30 Out. 2022

GAWRONSKA, Małgorzata, KOWALIK, Mateusz, MAKOWSKI, Mariusz. Recent advances in medicinal chemistry of ampicillin: Derivatives, metal complexes, and sensing approaches. **TrAC Trends in Analytical Chemistry.** v. 155. Out. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993622001741?casa_token=aW8lz-cd9mgAAAAA:TFQJREF3hXoVXUILvcV5LI6a3O_jvzVhCwOEpfHlyHR0M93Tp2PIROFu>

[oo7GzF8LJRb73kM#bib14](#)>. Acesso em: 11 Jan. 2023.

GESZKE-MORITZ, Małgorzata, MORITZ, Michał. Solid lipid nanoparticles as attractive drug vehicles: Composition, properties and therapeutic strategies. **Materials Science and Engineering: C**. v. 68, p. 982-994, Nov. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116305501?via%3Dihub#bb0080>>. Acesso em: 07 out. 2021

GETINO, Maria, SANABRIA-RÍOS, David J., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, Raúl, CAMPOS-GÓMEZ, Javier, SÁNCHEZ-LÓPEZ, José M., FERNÁNDEZ, Antônio, CARBALLEIRA, Néstor M., DE LA CRUZ, Fernando, Synthetic Fatty Acids Prevent Plasmid-Mediated Horizontal Gene Transfer. **mBio**. v. 6, n. 5, Set. 2015. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.01032-15#core-B6>>. Acesso em: 29 Out. 2022

GILCHRIST, J. J., MACLENNAN, C. A. Invasive Nontyphoidal Salmonella Disease in Africa. **EcoSal Plus**. v. 8, n. 2, fev. 2019. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/ecosalplus.ESP-0007-2018>> Acesso em: 26 jun 2022.

GONZÁLEZ, Juan E., KESHAVAN, Neela D. Messing with Bacterial Quorum Sensing. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v. 70. n. 4, Dez. 2006. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/MMBR.00002-06>>. Acesso em: 29 Out. 2022.

GROHMANN, E., MUTH, G., ESPINOSA, M. **Conjugative Plasmid Transfer in Gram-Positive Bacteria**. Oxford, v. 67, n. 2, p. 277-301, Jun. 2003. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/MMBR.67.2.277-301.2003>>. Acesso em: 31 Mai. 2022

GREGOVA, G., KMET, V., Antibiotic resistance and virulence of Escherichia coli strains isolated from animal rendering plant. **Scientific Reports 2020**. v. 10, n. 1, p. 1-7, out. 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-020-72851-5>> Acesso em: 06 out. 2021

GOMES, T. A.T., ELIAS, W. P., SCALETISKY, I. C.A., GUTH, B. E.C., RODRIGUES, J. F., PIAZZA, R. M.F., FERREIRA, L. C.S., MARTINEZ, M. B. Diarrheagenic Escherichia coli. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 47, p. 3-30, dez. 2016. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1517838216310917?via%3Dihub>>. Acesso em: 31 Mai. 2022.

GOLZ, Julia Carolin, STINGL, Kerstin. Natural Competence and Horizontal Gene Transfer in *Campylobacter*. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 431, p. 265-292, Fev. 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-65481-8_10>. Acesso em: 14 Fev. 2022.

GUGLIELMINI, Julien, DE LA CRUZ, Fernando, ROCHA, Eduardo P.C. Evolution of Conjugation and Type IV Secretion Systems. **Molecular Biology and Evolution**. v. 30, n. 2, p. 315-331, Fev. 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mbe/article/30/2/315/1013981?login=false>>. Acesso em: 10 Fev. 2022.

HOSSAIN, M.M.K.; ISLAM, M.S.; UDDIN, M.S.; RAHMAN, A.T.M.M.; UD-DAULA, A.; ISLAM, M.A.; RUBAYA, R.; BHUIYA, A.A.; ALIM, M.A.; JAHAN, N.; Li, J.; ALAM, J. Isolation, Identification and Genetic Characterization of Antibiotic Resistant *Escherichia coli* from Frozen Chicken Meat Obtained from Supermarkets at Dhaka City in Bangladesh. *Antibiotics*. v. 12, n. 1, 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6382/12/1/41>>. Acesso em: 18 Jan. 2023

IBGE. Comissão nacional de classificação. 2022. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/estruturateritorial/15761areas-dos-municipios.html?=&t=acesso-ao-produto>>. Acesso em: 5 mai. 2022.

İNCE, Seyyide Sarıçam, MUSTAK, Hamit Kaan. Genotyping and antimicrobial resistance profiles of chicken originated *Salmonella* Enteritidis isolates. **Brazilian Journal of Microbiology**. Fev. 2023. Acesso em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-023-00914-6#citeas>>. Acesso em: 25 Jan. 2023

JAKOVLJEVIĆ, Martina, JOKIĆ, Stela, MOLNAR, Maja, JAŠIĆ, Midhat, BABIĆ, Jurislav,

JUKIĆ, Huska, BANJARI, Ines. Bioactive Profile of Various *Salvia officinalis* L. Preparations. **Plants**, v. 8, n. 3, p. 1-30, Mar. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2223-7747/8/3/55>> Acesso em: 26 out. 2022.

JANG, J., HUR, H. G., SADOWSKY, M. J., BYAPPANAHALLI, M. N., YAN, T., ISHII, S. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. **Journal of Applied Microbiology**. v. 123, n. 3, abr. 2017. Disponível em:<<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jam.13468>>. Acesso em: 26 jun 2022

JIANG, Qi, FENG, Mingbao, YE, Chengsong, YU, Xin. Effects and relevant mechanisms of non-antibiotic factors on the horizontal transfer of antibiotic resistance genes in water environments: A review. **Science of The Total Environment**. v. 806, n. 3, p. 1-19, Fev. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004896972105645X>>. Acesso em: 14 Fev. 2022

JOHNSON, R., MYLONA, E., FRANKEL, G. Typhoidal *Salmonella*: Distinctive virulence factors and pathogenesis. **Cellular Microbiology**. v. 20, n. 9, set. 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cmi.12939>> . Acesso em: 26 jun 2022.

KHAMENEH, Bahman, DIAB, Roudayna, GHAZVINI, Kiarash, FAZLY BAZZAZ, Bibi Sedigheh. Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. **Microbial Pathogenesis**. v. 95, n. , p. 32-42, Jun. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401015301960?via%3Dihub>>. Acesso em: 04 out. 2021

KUMAR, S. B., ARNIPALLI, S. R., ZIOUZENKOVA, O. Antibiotics in Food Chain: The Consequences for Antibiotic Resistance. **Antibiotics**. Ohio, 9 (10): 688, p.1-7, out. 2020. Disponível em:<<https://www.mdpi.com/2079-6382/9/10/688/htm>>. Acesso em: 06 out. 2021

LAWLEY, T.D., KLIMKE, W.A., GUBBINS, M.J., FROST, L.S. F factor conjugation is a true type IV secretion system. **FEMS Microbiology Letters**. v. 224, p. 1-15. Jul. 2003, Acesso

em:<<https://academic.oup.com/femsle/article/224/1/1/499712?login=false>> Acesso em: 28 Out. 2022

LEKSHMI, M., AMMINI, P., KUMAR, S., VARELA, M. F., The Food Production Environment and the Development of Antimicrobial Resistance in Human Pathogens of Animal Origin. *Microorganisms*. v. 5, p. 1-15, mar. 2017. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2607/5/1/11/htm>> Acesso em: 06 out. 2021

LERMINIAUX, Nicole A., CAMERON, Andrew D.S. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Canadian Journal of Microbiology*. v. 65, n. 1, p. 34-44, Jan. 2019. Disponível em: <<https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/cjm-2018-0275>>. Acesso em: 14 Fev. 2022.

LI, Jiaqi, FENG, Jinsong, MA, Lina, DE LA FUENTE NÚÑEZ, César, GÖLZ, Greta, LU, Xiaonan. Effects of meat juice on biofilm formation of *Campylobacter* and *Salmonella*. *International Journal of Food Microbiology*. v. 253, p. 20-28, Jul. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160517301721?casa_tokn=wgosJARSwjsAAAAA:2dgt11s5Pf8vqdYNjOTtdRYVwhczY4wSWtXuEJ0cOcuzC7qkNKVhcuKwRUquEUjIU_ATToxMpz>. Acesso em: 27 Out. 2022.

LIMA, Thiellen Wrobel Kultz de, RENZI, Dani Fernanda, CAMPOS, Laís de Almeida. Nanopartículas sólidas lipídicas e sua aplicação na entrega de compostos ativos naturais. *Brazilian Journal of Development*. v. 7, n. 12, p. 1-25, Dez. 2021. Disponível em: <<https://brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/40461/pdf>>. Acesso em: 14 Fev. 2022.

LU, Y, ZHENG, J., WU, B., E, S., WANG, L., CAI, R., ZHANG, N., LI, Y, HUANG, X., HUANG, B. CHEN, C. Quorum Sensing N-acyl Homoserine Lactones-SdiA Suppresses *Escherichia coli*-*Pseudomonas aeruginosa* Conjugation through Inhibiting *traI* Expression. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. v. 7, p. 2235-2988. Jan. 2017. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00007/full>>. Acesso em: 29 Out. 2022

LUJAN, Scott A., GUOGAS, Laura M., RAGONESE, Heather, MATSON, Steven W.,

REDINBO, Matthew R. Disrupting antibiotic resistance propagation by inhibiting the conjugative DNA relaxase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 104, n. 30, p. 12282-12287. Jul. 2007. Disponível em: <<https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0702760104>> Acesso em: 29 Out. 2022

MENDES, Filipe Santos Ferreira, GARCIA, Letícia Matanovich, MORAES, Thais da Silva, CASEMIRO, Luciana Assirati ALCÂNTARA, Clauber Barbosa de, AMBRÓSIO, Sérgio Ricardo, VENEZIANI, Rodrigo Cássio Sola, MIRANDA, Mayker Lazaro Dantas, MARTINS, Carlos Henrique Gomes, Antibacterial activity of salvia officinalis L. against periodontopathogens: An in vitro study. **Anaerobe**. v. 63, p. 102-194, Jun. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1075996420300500?via%3Dihub>> . Acesso em: 10 fev. 2022.

MEDEIROS, A. L. e ASSI, A. A importância da inspeção e fiscalização frente à segurança dos produtos de origem animal. **Higiene alimentar**, São Paulo, Fev. 2021. Disponível em: <<https://higienealimentar.com.br/a-importancia-da-inspecao-e-fiscalizacao-frente-a-seguranca-dos-produtos-de-origem-animal/>>. Acesso em: 05 mai. 2022.

MISHRA, Dinesh K., SHANDILYA, Ruchita, MISHRA, Pradyumna K., Lipid based nanocarriers: a translational perspective. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, v. 14, n. 7, p. 2023-2050, Out. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1549963418304787?casa_token=J2nThHSw8AAAAA:ytWYYVcwwGAPzO2mNoFUfTi0Z6m6DPFylLd9mMJ2gpLM4DQj0SeCzbpJ_3awNqBa4GtJHrGowdBH> Acesso em: 05 mai. 2022.

MOGUIMI R., ALIAHMADI A., MCCLEMENTS D. J., RAFATI H. Investigations of the effectiveness of nanoemulsions from sage oil as antibacterial agents on some food borne pathogens. **LWT - Food Science and Technology**. v. 71, p. 69-76. Set. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643816301542?casa_token=1E_y2EUvoZEAAAAA:asKsaLzcon33c_OEJwDD4LxVFE_yQTgLMOKRXknWHIO9OO21CqONEK7NrcdKdonh8DEb93o> Acesso em: 15 Jan. 2023

MOREIRA, N. M., SOLA, M. C. , FEISTEL, J. C. ,DE OLIVEIRA, J. J., DE FREITAS, F. A. OS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA DA *Salmonella* sp. FRENTE À UTILIZAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**. Goiânia, v. 9, n. 16, p. 1131-1153, jul. 2013. Disponível em:<<https://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/os%20mecanismos%20de.pdf>>. Acesso em: 14 Fev. 2022.

MOKARIZADEH, M., KAFIL, H., GHANBARZADEH, S. ALIZADEH, A., HAMISHEHKAR, H. Improvement of citral antimicrobial activity by incorporation into nanostructured lipid carriers: A potential application in food stuffs as a natural preservative. **Research in Pharmaceutical Sciences**. v. 12, n. 5, p. 409-415, out. 2017. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5615871/>>. Acesso em: 27 jun 2022.

OLIVEIRA, A. B. A. de, PAULA, C. M. D. de , CAPALONGA, R. , CARDOSO, M. R. de I., TONDO, E. C. **FOODBORNE DISEASES, MAIN ETIOLOGIC AGENTS AND GENERAL ASPECTS: A REVIEW**. **Revista HCPA**. Porto Alegre. v. 30, n. 3, p. 279-285, set. 2010. Disponível em:<<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/157808>>. Acesso em: 07 mai 2022

OLIVEIRA, S. M. P., SILVA, B. S., HOMEM, R. T., PENA, R. H. R., BASSETO, K. V., & VIEIRA, T. B. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* e *Salmonella* isolados de água de coco “in natura” comercializadas no norte-mato-grossense. **Scientific Electronic Archives**, v. 14 n. 12, nov. 2021. Disponível em: <<https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1509/1542>>. Acesso em: 07 mai 2022

OSIŃSKA, M., NOWAKIEWICZ, A., ZIĘBA, P., GNAT, S., ŁAGOWSKI, D. Wildlife omnivores and herbivores as a significant vehicle of multidrug-resistant and pathogenic *Escherichia coli* strains in environment. **Environmental Microbiology Reports**. v. 12, n. 6, dez. 2020. Disponível em: <<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1758-2229.12886>> Acesso em: 23 mai 2022.

OYEDEMI, Blessing O.M., SHINDE, Vaibhav, SHINDE, Kamlesh, KAKALOU, Dionysia, STAPLETON, Paul D., GIBBONS, Simon. Novel R-plasmid conjugal transfer inhibitory and

antibacterial activities of phenolic compounds from *Mallotus philippensis*. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**. v. 5, p. 15-21, Jun. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213716516300145?via%3Dihub>> . Acesso em: 29 Out. 2022.

PEECHAKARA, Basil V., GUPTA, Mohit. Ampicillin/Sulbactam. Europe PMC. Set. 2018. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/nbk/nbk526117>> Acesso em: 18 Jan. 2023.

PIPER, Kevin R., FARRAND, Stephen K. Conjugal Transfer but Not Quorum-Dependent *tra* Gene Induction of pTiC58 Requires a Solid Surface. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 65, n. 6, p. 2798-2801, Jun. 1999. Disponível em:<<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.65.6.2798-2801.1999>>. Acesso em: 28 Out. 2022.

PRENSKY, H., GOMEZ-SIMMONDS, A., UHLEMANN, A-C., LOPATKIN, A. J. Conjugation dynamics depend on both the plasmid acquisition cost and the fitness cost. **Molecular Systems Biology**. v. 17, n. 3, mar. 2021. Disponível em:<<https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/msb.20209913>> . Acesso em: 27 jun 2022.

PONTES, D. S., DE ARAUJO, R. S. A., DANTAS, N., SCOTTI, L., SCOTTI, M. T., DE MOURA, R. O., MENDONCA-JUNIOR, F. J. B. Genetic Mechanisms of Antibiotic Resistance and the Role of Antibiotic Adjuvants. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. v. 18, n. 1, fev. 2018. Disponível em:<<https://www.eurekaselect.com/article/88346>>. Acesso em: 26 jun 2022.

RIBEIRO, N. M. Lígia, ALCANTARA, C. S. Ana, FRANZ-MONTAN, Michelle, COUTO, M. Veronica, NISTA, V. G. Silvia, DE PAULA, Eneida. Chapter 13 - Nanostructured organic-organic bio-hybrid delivery systems. **William Andrew Publishing**. p. 341-374, , mar. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128165065000115>>. Acesso em: 06 out. 2021

RIBEIRO, N. M. Lígia, DE PAULA, Eneida, ROSSI, A. Daise, MARTINS, A. Flávia, DE MELO, T. Roberta, MONTEIRO, P. Guilherme, BREITKREITZ, C. Márcia, GOULART, Luis Ricardo, FONSECA, B. Beatriz. Nanocarriers From Natural Lipids With In Vitro Activity Against *Campylobacter jejuni*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. v. 10, p. 1-827, jan. 2021. Disponível em: <<https://www.readcube.com/articles/10.3389/fcimb.2020.571040>> Acesso em: 06 out. 2021.

RIBEIRO, N. M. Lígia, FRANZ-MONTAN, Michelle, BREITKREITZ, C. Márcia, ALCANTARA, C. S. Ana, CASTRO, R. Simone, GUILHERME, A. Viviane, BARBOSA, M. Raquel, DE PAULA, Eneida. Nanostructured lipid carriers as robust systems for topical lidocaine-prilocaine release in dentistry. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 93, p. 192-202, out. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928098716303190?via%3Dihub>>. Acesso em: 06 out. 2021

RITTER, A. C., BACCIU, D., SANTI, L., DA SILVA, W. O. B., VAINSTEIN, M. H., RUBINO, S., UZZAU, S., TONDO, E. C. Investigation of *rpoS* and *dps* Genes in Sodium Hypochlorite Resistance of *Salmonella Enteritidis* SE86 Isolated from Foodborne Illness Outbreaks in Southern Brazil. **Journal of Food Protection**. v. 75, n. 3, p. 437-442, mar. 2012. Disponível em: <<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/75/3/437/173702/Investigation-of-rpoS-and-dps-Genes-in-Sodium>>. Acesso em: 26 jun 2022.

RODRÍGUEZ-BELTRÁN, Jerónimo, DELAFUENTE, Javier, LEÓN-SAMPEDRO, Ricardo, MACLEAN, R. Craig, SAN MILLÁN, Álvaro. Beyond horizontal gene transfer: the role of plasmids in bacterial evolution. **Nature Reviews Microbiology**. p. 347-359, v. 19, n. 6, Jan. 2021, Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41579-020-00497-1>> Acesso em: 14 Fev. 2022.

RODRIGUEZ-GRANDE, Jorge, FERNANDEZ-LOPEZ, Raul. Measuring Plasmid Conjugation Using Antibiotic Selection. **Methods Mol Biol**. New York, v. 2075, p. 93-98, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4939-9877-7_6>. Acesso em: 06

out. 2021

ROMERO-BARRIOS, P., DECKERT, A., PARMLEY, E. J., LECLAIR, D. Antimicrobial Resistance Profiles of Escherichia coli and Salmonella Isolates in Canadian Broiler Chickens and Their Products. **Foodborne Pathogens and Disease**. v. 17, n. 11, p. 672-678, 2020. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2019.2776>>. Acesso em: 06 out. 2021

SARJIT, Amreeta, RAVENSDALE, Joshua T., COOREY, Ranil, FEGAN, Narelle, DYKES, Gary A. Salmonella survival after exposure to heat in a model meat juice system. **Food Microbiology**. v. 94, Abr. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002020302173?casa_token=Lp5XIWkjjsAAAAA:nmJUGBzvEUFQPGuIO_18qvTAAa_Tbjr8HQjoFmRXkAPMJXDhtDFE2FDvR8m_bBPULYBCQC0YvwMuk> Acesso em: 28 Out. 2022

SILVA, M. O. e AQUINO, S. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**. v. 8, n. 4, São Paulo, Out. 2018. Disponível em: <<https://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia/article/view/11580>>. Acesso em: 05 mai. 2022.

SHINOHARA, N. K. S., MACEDO, I. M. E., BAZANTE, D. M. A., MATSUMOTO, M., PADILHA, M. R. F., XAVIER, V. L. Qualidade bacteriológica de frango do comércio informal. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 13, n. 2, jul. 2019. Disponível em: <<https://revistas.utfpr.edu.br/rbta/article/view/10061/7098>>. Acesso em: 05 mai. 2022.

SOARES, C. O. e ROSINHA, G, M, S, SEGURANÇA, ALIMENTAR, SUSTENTABILIDADE E PRODUÇÃO DE PROTEÍNA DE ORIGEM ANIMAL. **EMBRAPA GADO DE CORTE**. jul. 2019. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/199199/1/Seguranca-alimentar-sustentabilidade.pdf>>. Acesso em: 05 mai. 2022.

SORAGNI, L., BARNABE, A. S., MELLO, T. R. C. Doenças transmitidas por alimentos e

participação da manipulação inadequada para sua ocorrência: uma revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**. v. 9, n. 2, nov. 2019. Disponível em: <<https://periodicos.unifap.br/index.php/estacao/article/download/4370/larissav9n2.pdf>>. Acesso em: 23 mai. 2022

SCHLEMPER et al., AgroConab Novembro - Dezembro/2021. **CONAB**. nov. 2021. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuaria-eextrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-agroconab>>. Acesso em: 04 mai. 2022

SILVA DE MELO, E., DE AMORIM, W. R., PINHEIRO, R. E. E., CORRÊA, P. G. N., DE CARVALHO, S. M. R., SANTOS, A. R. S. S., BARROS, D. S., OLIVEIRA, E. T. A. C., MENDES, C. A., SOUSA, F. V. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: revisão. **PUBVET**. v.12, n.10, p.1-9, Out., 2018. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/uploads/8f4bab59148df2d67fa3e447190e2835.pdf>> Acesso em: 03 mai. 2022.

SOUBEIGA, Adama Patrice, KPODA, Dissinviel Stéphane, COMPAORÉ, Muller K. A., SOMDA-BELEMLougri, Asseto, KASEKO, Ndamiwe, ROUAMBA, Sibiri Sylvain, OUEDRAOGO, Sandrine, TRAORÉ, Roukiatou, KARFO, Paulette, NEZIEN, Désiré, NIKIÉMA, Fulbert, KABRE, Elie, ZONGO, Cheikna, SAVADOGO, Aly. Molecular Characterization and the Antimicrobial Resistance Profile of *Salmonella spp.* Isolated from Ready-to-Eat Foods in Ouagadougou, Burkina Faso. **International Journal of Microbiology**. Nov. 2022. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2022/9640828/>>. Acesso em: 29 Jan. 2023.

SUWONO, B., ECKMANN, T., KASPAR, H., MERLE, R., ZACHER, B., KOLLAS, C., WEISER, A. A., NOLL, I., FEIG, M., TENHAGEN, B. A. Cluster analysis of resistance combinations in *Escherichia coli* from different human and animal populations in Germany 2014-2017. **PLOS ONE**. v. 16, n. 1, jan. 2021. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0244413>> Acesso em: 05 mai 2022.

SIRTOLI, D. B., COMARELLA, L. O papel da vigilância sanitária na prevenção das doenças

transmitidas por alimentos (DTA). **Revista Saúde e Desenvolvimento**. v. 12, n. 10, mai. 2018. Disponível em: <<https://www.revistasuninter.com/revistasauade/index.php/saudeDesenvolvimento/article/view/878/507>>. Acesso em: 07 mai 2022.

SVS. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil Informe 2022 **Ministério da Saúde**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/arquivos/apresentacao-surtos-dtha-2022.pdf>> Acesso em: 03 mai. 2022.

THANASSI, David G., A BLISKA, James B., A CHRISTIE, Peter J. Surface organelles assembled by secretion systems of Gram-negative bacteria: diversity in structure and function. **FEMS Microbiology Reviews**. v. 36, n. 6, p. 1046-1082. Nov. 2012. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femsre/article/36/6/1046/728844>> Acesso em: 29 Out. 2022

TRAN-DIEN A., LE HELLO S., BOUCHIER C., WEILL FX. Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic Salmonella enterica serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study. **The Lancet Infectious Diseases**. v. 18, n. 2., p. 207-214. Fev. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1473309917307053?casa_token=ayiG699DGmQAAAAA:CHqF6u8SiPBTuuDQqeSwdRPzXl1V_clpW7HqZFNe7ok3pgR854OlhloF0xOAY0cPbUyR66SN#bib6>. Acesso em: 24 Jan. 2023

UCHIDA, D. T., SIQUEIRA, G. F., DOS REIS, E. M., HEGETO, F. L., NETO, A. M., REIS, A. V., BRUSCHI, M. L., NOVA, M. V., JÚNIOR, M. M. Design of Nanostructured Lipid Carriers Containing Cymbopogon martinii (Palmarosa) Essential Oil against Aspergillus nomius. **Molecules**. v. 26, n. 16, ago. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/26/16/4825/htm>>. Acesso em: 28 set. 2022.

VAN AMSON, Gisele, HARACEMIV, Sônia Maria Chaves, MASSON, Maria Lucia. Data research of foodborne diseases outbreaks from state of Paraná Brazil, in the period from 1978 to

2000. *Ciência e Agrotecnologia*. v. 30, n. 6, p. 1139-1145. Dez. 2006. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cagro/a/nRB6bD8Fc7MTNYzzSqkfHgB/?lang=pt#>>. Acesso em: 27 Dez. 2022.

VAN, T. T. H., MOUTAFIS, G., TRAN, L. T., COLOE, P. J. Antibiotic Resistance in Food-Borne Bacterial Contaminants in Vietnam. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 73, n. 24, dez. 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2168151/>> Acesso em: 06 mai. 2022.

VIROLLE, Chloé, GOLDLUST, Kelly, DJERMOUN, Sarah, BIGOT, Sarah, LESTERLIN, Christian. Plasmid Transfer by Conjugation in Gram-Negative Bacteria: From the Cellular to the Community Level. **Genes**, v. 11, n. 11, p. 1-32, Out., 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4425/11/11/1239/htm>>. Acesso em: 03 Out. 2021.

WALDMAN, J., SOUZA, M. N., FONSECA, A. S.K., IKUTA, N., LUNGE, V. R. Direct detection of Salmonella from poultry samples by DNA isothermal amplification. **British poultry science**. v. 61, n. 6, p. 653-659, ago. 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00071668.2020.1808188?journalCode=cbps20>>. Acesso em: 25 mai 2022.

WANG, Ying A., YU, Xiong, SILVERMAN, Philip M., HARRIS, Robin L., EGELMAN, Edward H. The Structure of F-Pili. **Journal of Molecular Biology**. v. 385, p. 22-29, Jan. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283608013430?casa_token=Av_xBHvMJM4AAAAA:CZ1SfUtS72TDIhHJJGX8L9F70zI0hUuBFVECSjz_MF1q0NXeSZK2JeHfSGUyRZh-otzBOFi8sP>. Acesso em: 29 Out. 2022

WELKER, C. A. D., BOTH, J. M. C., LONGARAY, S. M., HAAS, S., SOEIRO M. L. T. RAMOS, R. C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 8, n. 1, p. 44-48, jan. 2010. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1322/911>> Acesso em: 07 mai 2022

YAZGAN, Hatice. Investigation of antimicrobial properties of sage essential oil and its nanoemulsion as antimicrobial agent. **LWT**. v. 130. Ago. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643820306587?casa_token=eZWHPTCW4icAAAAA:ZQkVkgSphsUklWSeFfXTqqe8QLN49UAUHVm0rOgQhtCtelZ8tAoqRzY8-EoFV14kN8EKxwq#bib44> Acesso em: 5 Jan. 2023

ZHONG, Xue, DROESCH, Jason, FOX, Randal, TOP, Eva M., KRONE, Stephen M. **JOUR**. On the meaning and estimation of plasmid transfer rates for surface-associated and well-mixed bacterial populations. v. 294, p. 144-152, Fev. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022519311005571?casa_token=OuZduMkHn1QAAAAA:olTjLbeKl1V0vW2N1aYE4hUWtUEx2dxVn CZ5nz3XTSjaRfeMeWIUypo_6>. Acesso em: 07 mai 2022